

Gheorghe TOACȘE

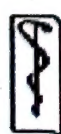
Ana Maria TOACȘE

INCERTITUDINE

și

VALIDARE

Pentru laboratoarele medicale



E Editura MEDICALĂ
M BUCUREȘTI, 2008



Gheorghe TOACȘE

Ana Maria TOACȘE

INCERTITUDINE și VALIDARE

PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

*Cumpărată de Dr. Rodica Tăutuțanu
în 18.02.2009; să fie un ajutor în vederea
acreditării laboratorului de analize medicale
al Spitalului Clinic de Boli Infecțioase din*

Sf. Iulian.

[Signature]

ME Editura MEDICALĂ
BUCUREȘTI, 2008

Cuvânt înainte

În ultimii ani, îndeplinirea cerințelor pentru calitatea rezultatelor analizelor efectuate în laboratoare medicale și a compatibilității acestor rezultate între laboratoare a devenit o preocupare curentă. În acest sens, a apărut evidentă introducerea unor concepte noi definite prin termenii/noțiunile ca: validare, calitate, trasabilitate metrologică, variabilitate analitică sau incertitudine de măsurare.

Introducerea acestor noi concepte, în practica curentă, nu de puține ori, este însoțită de o anumită rezistență. Sunt mai multe motive pentru care asimilarea și implementarea acestora nu este tocmai simplă și rapidă, dar câteva mai importante sunt:

- noțiunile nu sunt înțelese/explicate corect, presupunând și o reinstruire;
- implementarea acestora necesită un efort de organizare și chiar investițional, care nu au un efect imediat;
- nu sunt clare avantajele aplicării lor.

Această lucrare vine în sprijinul specialiștilor de laborator, realizând o introducere simplă și graduală a acestor noțiuni, dar fără a le goli de semantica proprie. Pentru aceasta, întreaga lucrare abordează o expunere bazată pe explicații accesibile, cu foarte multe exemplificări din practica laboratoarelor, ceea ce face ca aceste concepte, aparent abstracte, să fie ușor înțelese de către cititor și să devină noțiuni operative, chiar prietenoase. Numeroasele exemple, care însoțesc explicațiile, sunt cazuri reale ce pot fi utilizate pentru procesul de validare și de determinare a incertitudinii pentru metodele analitice de laborator.

Lucrarea se adresează specialiștilor din laboratoarele medicale, fiind un suport în însușirea și implementarea acestor noi concepte pentru practica curentă de laborator. Totodată, este utilă și medicilor clinicieni pentru însușirea modului nou de interpretare a rezultatelor analizelor de laborator însoțite de valoarea incertitudinii de măsurare, precum și studenților de la medicină și biologie.

Mulțumim Nicoletei Cucu-Laurenciu pentru sprijinul acordat în procesarea materialului pentru această carte.

Brașov, septembrie 2008

Autorii

Editura Medicală este marcă înregistrată a S.C. EDITURA MEDICALĂ S. A.
– J40/8199/1991.

© „Toate drepturile editoriale aparțin în exclusivitate Editurii Medicale. Publicația este marcă înregistrată a Editurii Medicale, fiind protejată integral de legislația internă și internațională. Orice valorificare a conținutului în afara limitelor acestor legi și a permisiunii editorilor este interzisă și pasibilă de pedeapsă. Acest lucru este valabil pentru orice reproducere – integrală sau parțială, indiferent de mijloace (multiplicări, traduceri, microfilmări, transcrieri pe dischete etc.)”.

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României
TOACȘE GHEORGHE

**Incertitudine și validare: pentru laboratoarele
medicale/Gheorghe Toacșe, Ana Maria Toacșe – București:
Editura Medicală, 2008**

ISBN 978-973-39-0666-7

542:616-074

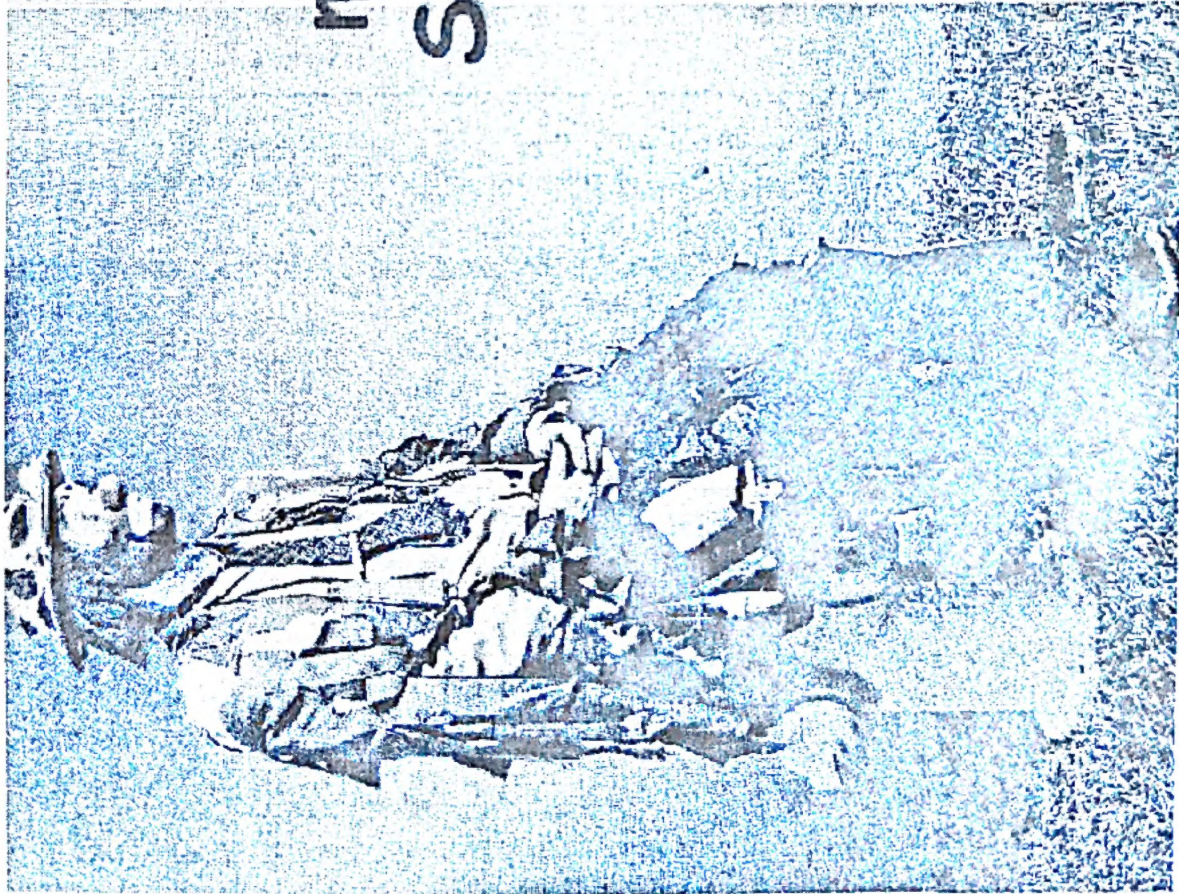
Cuprins

1	DISTRIBUȚII DE PROBABILITATE	9
1.1	EVENIMENT ALEATORIU	9
1.2	DISTRIBUȚIA NORMALĂ	12
1.2.1	Funcția de repartiție (de probabilitate)	13
1.2.2	Calcul de probabilități	15
1.3	ALTE TIPURI DE DISTRIBUȚII DE PROBABILITATE	21
1.3.1	Distribuția de tip dreptunghiulară	21
1.3.2	Distribuția de tip trapezoidală	25
1.3.3	Distribuția de tip triunghiulară	26
1.3.4	Distribuția de tip aproximativ normală	27
2	MĂSURARE, STATISTICĂ, VALIDARE	31
2.1	MĂSURARE	33
2.2	STATISTICĂ	34
2.3	EXACTITATE ȘI PRECIZIE	38
2.3.1	Eroarea sistematică	39
2.3.2	Eroarea aleatorie	52
2.3.3	Acuratețea	56
2.3.4	Obiective analitice	59
2.4	VALIDAREA METODELOR ANALITICE	63
2.4.1	Condițiile tehnice în care se realizează metoda	64
2.4.2	Parametrii caracteristici ai metodelor analitice	65
2.4.3	Structurarea raportului de validare	73
2.5	CONTROLUL INTERN AL CALITĂȚII	76
2.5.1	Evaluarea calitativă a performanțelor unei metode analitice	76
2.5.2	Reguli de control	85
2.5.3	Reguli multiple de control	93
2.5.4	Selectarea procedurii de control	97
3	ESTIMAREA INCERTITUDINII DE MĂSURARE	103
3.1	NOȚIUNEA DE INCERTITUDINE	103
3.1.1	Metode de estimare a incertitudinii de măsurare pentru metodele analitice cantitative	105

3.2	ESTIMAREA INCERTITUDINII PRIN METODA ANALITICĂ	107
3.2.1	Modelul matematic	107
3.2.2	Evaluarea incertitudinii standard de tip A	108
3.2.3	Evaluarea incertitudinii standard de tip B	109
3.2.4	Calculul incertitudinii standard compusă	113
3.2.5	Incetitudinea extinsă	118
3.2.6	Raportarea incertitudinii	123
3.2.7	Sumar al procedurii de evaluare și exprimare a incertitudinii	125
3.3	ESTIMAREA INCERTITUDINII PRIN METODE NEANALITICE	127
3.3.1	Estimarea incertitudinii de măsurare din caracteristicile metodei	127
3.3.2	Estimarea incertitudinii de măsurare din compararea inter-laboratoare	130
3.3.3	Estimarea incertitudinii cu calibrator trasabil	137
3.3.4	Utilizarea incertitudinii raportate pentru interpretarea clinică	138
	Bibliografie	145
	Anexa 1 - Prepararea unui calibrator standard	153
	Anexa 2 - Estimarea incertitudinii asociate procesului de măsurare a glicemiei pe un analizor utilizând metoda analitică	158
	Anexa 3 - Exemplu de fișă de validare	162
	Anexa 4 - Exemplu de estimare și raportare pentru incertitudinea de măsurare	166
	Anexa 5 - Fișă pentru estimarea incertitudinii de măsurare conform asociației australasiene de biochimie clinică	169
	Anexa 6 - Cerințele de calitate analitică (După CLIA-88)	170

Nobody can
escape the
mathematicians
So let us try to
calculate
measurement
uncertainties

.....



Capitolul 1

DISTRIBUȚII DE PROBABILITATE

Exemplul 1.1 Pentru determinarea unei probe de glucoză în ser se efectuează consecutiv, într-un timp scurt, zece măsurări și se obțin următoarele valori [mg/dL]: 95,3; 87,5; 89,5; 92; 98; 90,5; 94,5; 85; 94; 83. Se observă că valorile obținute au o variație aleatorie (engl. aleatory = întâmplător, stohastic). Se pune întrebarea, care este, de fapt, valoarea estimată pentru proba măsurată ?

Un răspuns se poate obține dacă șirul de măsurări se consideră ca fiind valorile unei variabile aleatorii, pentru care utilizând noțiuni de probabilitate, se procesează și se extrage informația conținută în dispersia valorilor acestui șir. Noțiunile de distribuție de probabilitate, necesare pentru o operare cu o variabilă aleatorie, sunt prezentate în primul capitol al acestei cărți.

1.1 EVENIMENT ALEATORIU

- **Variabilă aleatorie** - variabilă care poate lua orice valoare într-un ansamblu de valori și căreia i se asociază o distribuție de probabilitate. Generic, se notează o variabilă aleatorie cu literă mare X , iar valori concrete pentru această variabilă se notează cu literă mică, de exemplu x_1, x_2, x_3, \dots . Variabila aleatorie poate fi:

1. **Variabilă aleatorie continuă**, care poate lua orice valoare într-un interval finit sau infinit, de exemplu: $X \in [x_1, x_2)$ sau altfel exprimat $x_1 \leq X < x_2$; Uneori limitele intervalului în care variabila aleatorie ia valori se exprimă în funcție de o valoare particulară din interiorul acestui interval, de exemplu în funcție de o valoare μ , $X \in [\mu - a_-, \mu + a_+]$ sau $\mu - a_- \leq X \leq \mu + a_+$, unde a_- și a_+ sunt două numere diferite.

În cazul în care $a_- = a_+ = a$, adică intervalul se compune din două semiintervale a simetrice față de valoarea μ , atunci pentru exprimarea acestui tip de interval, $\mu - a \leq X \leq \mu + a$, se poate utiliza notația în modul (vezi analiza de pagina 13)

$$|X - \mu| \leq a$$

De exemplu, un astfel de interval simetric poate prezenta un material de referință care are valorile limită 35 și 45 mg/dL iar valoarea țintă 35 mg/dL (media celor două valori), exprimarea intervalului este $|X - 35| \leq 5$.

2. **Variabilă aleatorie discretă**, care poate lua doar valori izolate într-un interval, de exemplu: $X \in \{0,1,2,3,4,5\}$

- **Probabilitate** - număr real pe scara de la 0 la 1 ($0 \leq p \leq 1$), asociat unui eveniment aleatoriu A . Probabilitatea unui eveniment aleatoriu A este notată cu $P(A) = p$. Există două modalități de interpretare a probabilității (bazate pe):

1. **Frecvența relativă** cu care se produce evenimentul. Repetând de un număr de n ori măsurarea unei mărimi X se constată că de m ori rezultatul măsurărilor cade într-un anumit interval de valori $[x_1, x_2]$; raportul m/n , pentru un număr n de măsurări foarte mare, care este frecvența relativă de a cădea în intervalul de valori $[x_1, x_2]$, se apropie de un număr bine determinat (caracteristica intervalului) numit probabilitatea ca variabila aleatorie x să ia valori în acest interval:

$$P(x_1 \leq X \leq x_2) \approx m/n$$

În acest caz probabilitatea (m/n) apare ca un caz ideal al frecvenței relative a variabilei X de a cădea în intervalul $[x_1, x_2]$. De exemplu, prin măsurarea de 100 de ori a unei probe de glucoză în ser se constată că de 37 ori valorile obținute se situează în intervalul $[80\text{mg/dL}, 86\text{mg/dL}]$, deci probabilitatea ca valorile probei măsurate să se plaseze în acest interval este de $37/100 = 0,37$, sau procentual 37%.

2. **Gradul de încredere** atribuit producerii unui eveniment $P(A) = p$. De exemplu, dacă probabilitatea de producere a unui eveniment A este $P(A) = 0,5$, atunci gradul de încredere că evenimentul A nu se produce este $(1 - P(A))$; în acest exemplu gradul de încredere că evenimentul se produce este de 0,5 (50%) și este egal cu gradul de încredere de 0,5 (50%) că evenimentul nu se produce.

- **EXPERIMENT** (eveniment aleatoriu).

Spre un punct țintă, fixat pe plaje, se aruncă succesiv 100 de bile, împrăștierea/dispersia bilelor pe nisip în jurul punctului țintă va fi similară cu cea reprezentată în Figura 1.1-a. Dacă se numără bilele de la stânga la dreapta, în lungul axei X , se poate determina câte bile se află pe câte o unitate de lungime, de exemplu o unitate de lungime poate fi luată de 20 cm, aceste numere obținute reprezintă o densitate de bile pe unitatea de lungime (de 20 cm). Reprezentând aceste densități de bile pe unitatea de lungime (densitate liniară) în lungul axei X se obține o curbă ca cea din Figura 1.1-b, această curbă este o reprezentare grafică a modelului matematic care descrie variația densității liniare a numărului de bile din acest experiment. Pentru experimente care au o astfel de distribuție de densitate ca cea descrisă există un model matematic (o exprimare printr-o relație) - **distribuția de tip Gauss** (legea de distribuție normală a unei variabile aleatorii), existența unui model matematic pentru un experiment face posibil studiul acestuia pe model fără ca să se realizeze fizic experimentul.

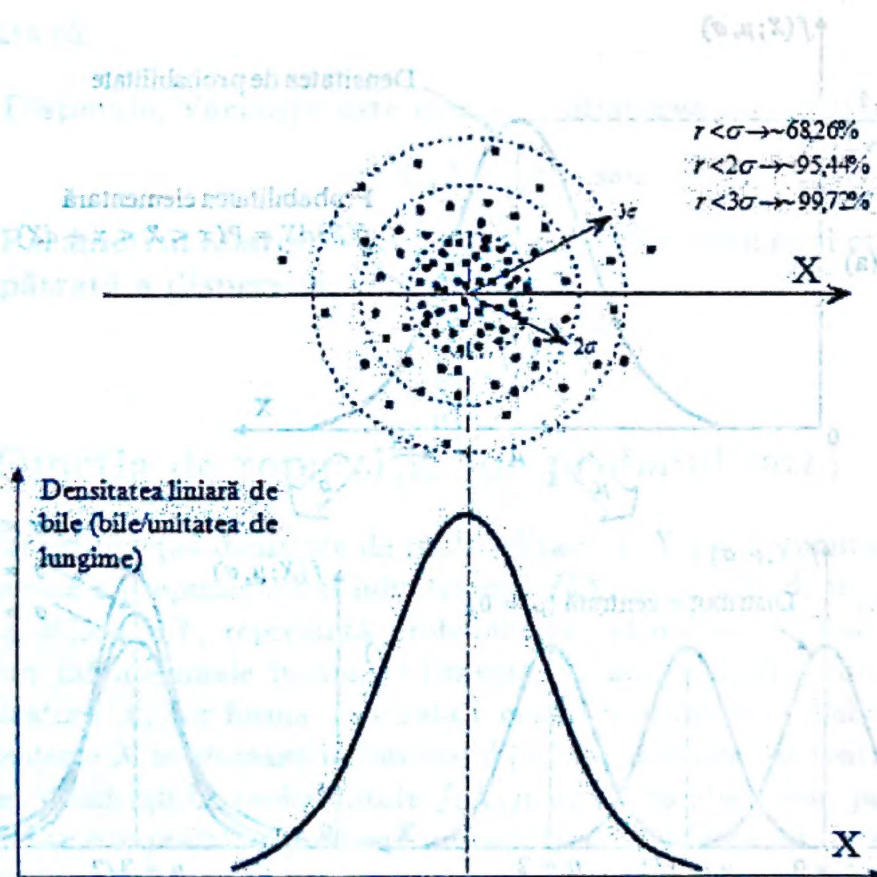


Figura 1.1 Reprezentarea pentru experimentul descris: a) dispersia /împrăștierea b) variația densității liniare

1.2 DISTRIBUȚIA NORMALĂ

Distribuția de tip Gauss este referită și ca distribuție normală deoarece multe procese aleatorii întâlnite în natură și societate pot fi descrise prin acest tip de model matematic.

- Funcția de densitate de probabilitate pentru distribuția normală este exprimată de relația:

$$f(X; \mu, \sigma) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} \quad (1.1)$$

în care: X - variabilă aleatorie,
dar funcția de densitate de probabilitate depinde și de următorii doi parametri:

μ - valoarea medie (teoretică) sau valoarea așteptată a lui f

σ - abaterea medie (teoretică)

și are reprezentare grafică (clopotul lui Gauss) din Figura 1.2

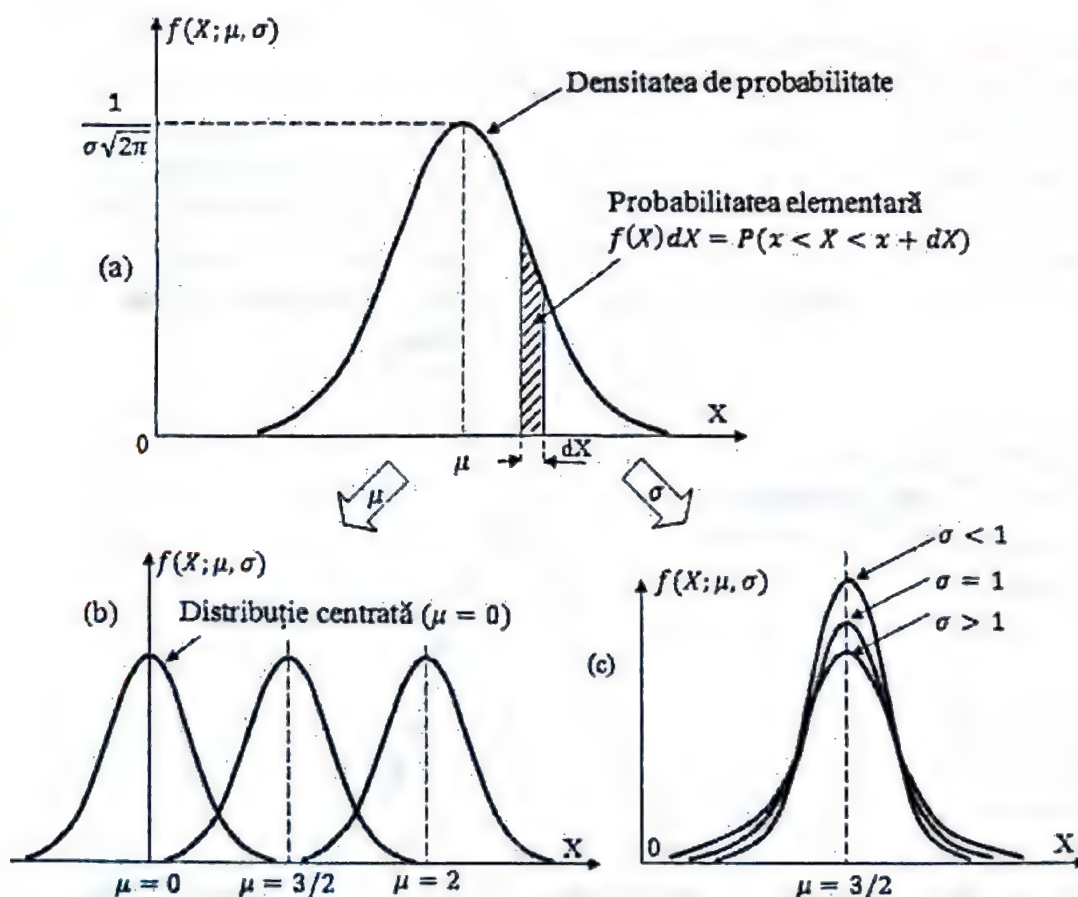


Figura 1.2 Graficul funcției de densitate pe probabilitate normală (clopotul lui Gauss): a) dependența de parametrul μ ; b) dependența de parametrul σ

- Valoarea medie (teoretică), μ , valoarea așteptată, media (teoretică) pentru o variabilă aleatorie continuă X , cu funcția de densitate de probabilitate $f(X; \mu, \sigma)$ se definește:

$$E(X) = \int_{-\infty}^{+\infty} X \cdot f(X; \mu, \sigma) dX = \int_{-\infty}^{+\infty} X \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} dX = \mu \quad (1.2)$$

- Varianța/Dispersia, $D(X)$, unei variabile aleatorii X cu densitatea de probabilitate $f(X; \mu, \sigma)$, se definește:

$$\begin{aligned} D(X) = E[X - E(X)]^2 &= \int_{-\infty}^{+\infty} (X - \mu)^2 \cdot f(X; \mu, \sigma) dX \\ &= \int_{-\infty}^{+\infty} (X - \mu)^2 \cdot \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} dX = \sigma^2 \end{aligned} \quad (1.3)$$

Rezultă că:

1. Dispersia/Varianța este egală cu abaterea medie pătratică

$$D(X) = \sigma^2, \text{ sau}$$

2. Parametrul abaterea medie (teoretică) σ , este egal cu rădăcina pătrată a dispersiei/varianței

$$\sigma = \sqrt{D(X)}$$

1.2.1 Funcția de repartiție (de probabilitate)

Pe graficul funcției densitate de probabilitate, $f(X; \mu, \sigma)$, Figura 1.2-a, suprafața hașurată a dreptunghiului infinitesimal $f(X; \mu, \sigma) \cdot dX$, de înălțime $f(X; \mu, \sigma)$ și lățime dX , reprezintă probabilitatea elementară. Toate astfel de dreptunghiuri infinitesimale însumate (integrate), dintre două valori x_1, x_2 ale variabilei aleatorii X , vor forma o suprafață egală cu valoarea probabilității când variabila aleatorie X se situează în intervalul $[x_1, x_2]$. Evident, că toată suprafața de sub curba densității de probabilitate $f(X; \mu, \sigma)$ și axa absciselor, pe intervalul $(-\infty, +\infty)$, este o suprafață de valoare unitară (probabilitatea = 1, este o certitudine că valoarea mărimii măsurate se află undeva pe intervalul $(-\infty, +\infty)$).

$$\int_{-\infty}^{+\infty} f(X; \mu, \sigma) dX = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} dX = 1 \quad (1.4)$$

- Funcția de repartiție a probabilității exprimă probabilitatea ca valoarea variabilei aleatorii X să fie mai mică decât x_1 .

$$F(X; \mu, \sigma) = P(X < x_1) = \int_{-\infty}^{x_1} f(X; \mu, \sigma) dX = \int_{-\infty}^{x_1} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} dX \quad (1.5)$$

Interpretarea geometrică a valorii funcției repartiție de probabilitate, pentru $X = x_1$, reprezintă suprafața (hașurată) de sub graficul funcției densitate de probabilitate $f(X; \mu, \sigma)$ și axa absciselor de la $-\infty$ până la x_1 ; deci probabilitatea ca variabila aleatorie X să aibă o valoare mai mică decât x_1 este egală cu valoarea suprafeței cuprinse între funcția densitate de probabilitate $f(X; \mu, \sigma)$ și axa absciselor de la $-\infty$ până la x_1 , Figura 1.3-a.

De fapt, derivata funcției de repartiție de probabilitate $F(X; \mu, \sigma)$ este funcția de densitate de probabilitate $f(X; \mu, \sigma)$ și evident invers, integrala funcției de densitate de probabilitate este funcția repartiție de probabilitate. Această afirmație este reprezentată grafic în Figura 1.3

$$f(X; \mu, \sigma) = \frac{dF(X; \mu, \sigma)}{dX} \Leftrightarrow F(X; \mu, \sigma) = \int f(X; \mu, \sigma) dX$$

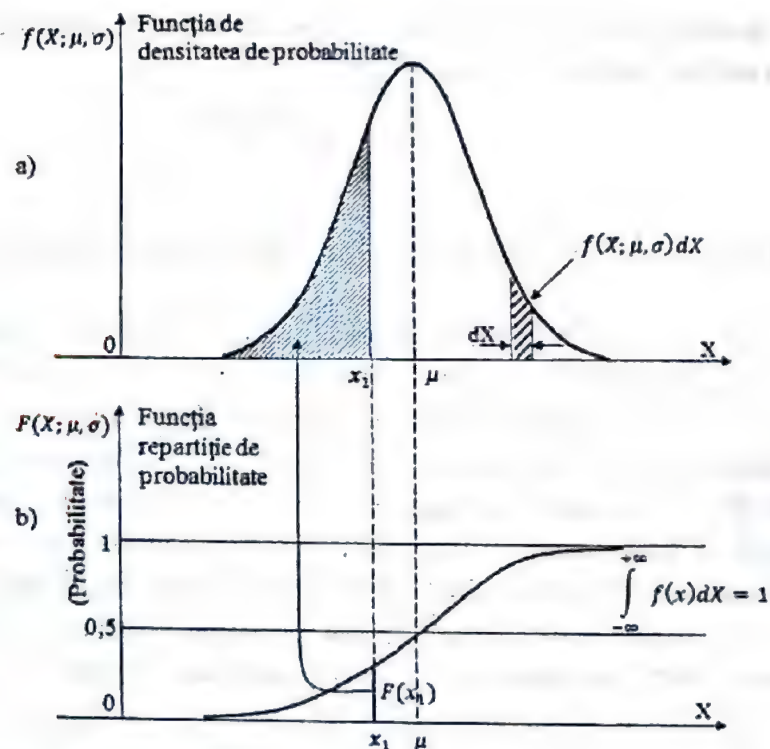


Figura 1.3 Reprezentarea geometrică a corelației dintre funcția de densitate de probabilitate, (a) și funcția de repartiție de probabilitate, (b)

1.2.2 Calcule de probabilități

În practică, sunt necesare calcule pentru determinarea de valori de funcții de repartiție de probabilitate pentru anumite intervale, care, utilizând relația (1.5), se pot exprima sub următoarele două forme:

1. calcularea probabilității când valoarea variabilei aleatorii se situează sub o limită, $X < x_1$

$$P(X < x_1) = \int_{-\infty}^{x_1} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} dX$$

2. calcularea probabilității când valoarea variabilei aleatorii se situează în intervalul $x_1 < X < x_2$

$$P(x_1 < X < x_2) = \int_{-\infty}^{x_2} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} dX - \int_{-\infty}^{x_1} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} dX$$

și acestea se reduc (pentru calcul numeric) respectiv la expresiile:

$$P(X < x_1) = \frac{1}{2} + \Phi\left(\frac{x_1 - \mu}{\sigma}\right) \quad (1.6)$$

$$P(x_1 < X < x_2) = \Phi\left(\frac{x_2 - \mu}{\sigma}\right) - \Phi\left(\frac{x_1 - \mu}{\sigma}\right) \quad (1.7)$$

unde $\Phi\left(\frac{X - \mu}{\sigma}\right)$ (sau $\Phi(t)$ când se face substituția $\frac{X - \mu}{\sigma} = t$ pentru argument) este funcția lui Laplace și ale cărei valori sunt prezentate sub forma tabelară în TABELUL 1.1. În acest tabel, sunt prezentate doar valorile funcției pentru argumentul $t > 0$, deoarece valorile funcției pentru valori negative ale argumentului, $t < 0$, au următoarea proprietate: $\Phi(-t) = -\Phi(t)$, funcția este simetrică. Utilizând relațiile (1.6) și (1.7) se poate calcula pentru un proces de măsurare, care este probabilitatea ca valorile rezultatelor măsurărilor să fie mai mici decât o valoare x_1 sau probabilitatea ca rezultatele măsurărilor să se situeze în intervalul $[x_1, x_2]$.

Exemplul 1.2 O variabilă aleatorie cu distribuția normală are valorile parametrilor: $\mu = 30, \sigma = 10$. Să se calculeze:

- a) Probabilitatea ca variabila X să ia valori mai mici ca 5, de asemenea probabilitatea când variabila X ia valori mai mici ca -5
- b) Probabilitatea ca valorile variabilei X să fie cuprinse în intervalul $X \in (15, 30)$, de asemenea probabilitatea când valorile lui X sunt cuprinse în intervalul $(10, 50)$.

TABELUL 1.1. VALORILE TABELATE PENTRU FUNCȚIA LUI LAPLACE $\Phi(z)$

Valori legate de probabilitate $\Phi(z)$; funcția $z = z(p)$ este inversa funcției $\Phi(z) = \frac{1}{2} + \frac{1}{\pi} \arctan z$

z	$\Phi(z)$	$1 - \Phi(z)$	$1 - 2\Phi(z)$	$1 - z(p)$	p
2.5	0.49378	0.01242	0.05	1.960	0.95
2.6	0.49534	0.00932	0.04	2.054	0.96
2.7	0.49653	0.00683	0.03	2.170	0.97
2.8	0.49744	0.00511	0.02	2.326	0.98
2.9	0.49813	0.00373	0.01	2.578	0.99
3.0	0.49865	0.00270	0.009	2.812	0.991
3.1	0.49903	0.00194	0.008	3.052	0.992
3.2	0.49931	0.00137	0.007	3.297	0.993
3.3	0.49952	0.00097	0.006	3.548	0.994
3.4	0.49966	0.00067	0.005	3.807	0.995
3.5	0.49977	0.00045	0.004	4.078	0.996
3.6	0.49984	0.00031	0.003	4.368	0.997
3.7	0.49988	0.00021	0.002	4.670	0.998
3.8	0.49992	0.00015	0.001	4.981	0.999
3.9	0.49995	0.00009	0.0009	5.320	0.9991
4.0	0.49998	0.00003	0.0008	5.653	0.9992
4.1	0.49999	0.00001	0.0007	5.990	0.9993
4.2	0.49999	0.00000	0.0006	6.332	0.9994
4.3	0.49999	0.00000	0.0005	6.681	0.9995
4.4	0.49999	0.00000	0.0004	7.040	0.9996
4.5	0.49999	0.00000	0.0003	7.415	0.9997
4.6	0.49999	0.00000	0.0002	7.800	0.9998
4.7	0.49999	0.00000	0.0001	8.191	0.9999
4.8	0.49999	0.00000	10 ⁻⁴	8.587	1-10 ⁻⁴
4.9	0.49999	0.00000	10 ⁻⁴	8.987	1-10 ⁻⁴
5.0	0.49999	0.00000	10 ⁻⁷	9.387	1-10 ⁻⁷

În tabelul valorilor funcției $\Phi(z)$ eroarea de interpolare liniară este de cel mult 10^{-4} în intervalul $(2.5; 3.2)$; 10^{-4} în intervalul $(3.2; 3.9)$; 10^{-4} în intervalul $(3.9; 4.5)$; 10^{-7} în intervalul $(4.5; 5.0)$.

În tabelul valorilor $z(p)$ nu se face interpolare.

Valorile funcției $\Phi(z) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_0^z e^{-t^2/2} dt$, $\Phi(-z) = 1 - \Phi(z)$

z	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.0	0.0000	0.0040	0.0160	0.0360	0.0640	0.1000	0.1400	0.1800	0.2160	0.2500
0.1	0.0398	0.0438	0.0478	0.0517	0.0557	0.0596	0.0636	0.0675	0.0714	0.0753
0.2	0.0793	0.0832	0.0871	0.0910	0.0948	0.0987	0.1026	0.1064	0.1103	0.1141
0.3	0.1179	0.1217	0.1255	0.1293	0.1331	0.1368	0.1406	0.1443	0.1480	0.1517
0.4	0.1554	0.1591	0.1628	0.1664	0.1700	0.1736	0.1772	0.1808	0.1844	0.1879
0.5	0.1915	0.1950	0.1985	0.2019	0.2054	0.2088	0.2123	0.2157	0.2190	0.2224
0.6	0.2257	0.2291	0.2324	0.2357	0.2389	0.2422	0.2454	0.2486	0.2517	0.2549
0.7	0.2580	0.2611	0.2642	0.2673	0.2703	0.2734	0.2764	0.2794	0.2823	0.2852
0.8	0.2881	0.2910	0.2939	0.2967	0.2995	0.3023	0.3051	0.3078	0.3106	0.3133
0.9	0.3159	0.3186	0.3212	0.3238	0.3264	0.3289	0.3315	0.3340	0.3365	0.3389
1.0	0.3413	0.3437	0.3461	0.3485	0.3508	0.3531	0.3554	0.3577	0.3599	0.3621
1.1	0.3643	0.3665	0.3686	0.3708	0.3729	0.3749	0.3770	0.3790	0.3810	0.3830
1.2	0.3849	0.3869	0.3888	0.3907	0.3926	0.3944	0.3962	0.3980	0.3997	0.4015
1.3	0.4032	0.4049	0.4066	0.4082	0.4099	0.4115	0.4131	0.4147	0.4162	0.4177
1.4	0.4192	0.4207	0.4222	0.4236	0.4251	0.4265	0.4279	0.4292	0.4306	0.4319
1.5	0.4332	0.4345	0.4357	0.4370	0.4382	0.4394	0.4406	0.4418	0.4429	0.4441
1.6	0.4452	0.4463	0.4474	0.4484	0.4495	0.4505	0.4515	0.4525	0.4535	0.4545
1.7	0.4554	0.4564	0.4573	0.4582	0.4591	0.4599	0.4608	0.4618	0.4625	0.4633
1.8	0.4641	0.4649	0.4656	0.4664	0.4671	0.4678	0.4686	0.4693	0.4699	0.4706
1.9	0.4713	0.4719	0.4726	0.4732	0.4738	0.4744	0.4750	0.4756	0.4761	0.4767
2.0	0.4772	0.4778	0.4783	0.4788	0.4793	0.4798	0.4803	0.4808	0.4812	0.4817
2.1	0.4821	0.4826	0.4830	0.4834	0.4838	0.4842	0.4846	0.4850	0.4854	0.4857
2.2	0.4861	0.4864	0.4868	0.4871	0.4875	0.4878	0.4881	0.4884	0.4887	0.4890
2.3	0.4893	0.4896	0.4898	0.4901	0.4904	0.4906	0.4909	0.4911	0.4913	0.4916
2.4	0.4918	0.4920	0.4922	0.4925	0.4927	0.4929	0.4931	0.4932	0.4934	0.4936

Tabelul admite o interpolare liniară cu o eroare de până la 10^{-4} .

Exemplu. Să se calculeze $\Phi(1.614)$.

Soluție. Luăm din tabel două valori: $\Phi(1.61) = 0.4463$ și $\Phi(1.62) = 0.4474$ cu diferența 0.0011 și deducem corecția la creșterea relativă a argumentului $(1.614 - 1.61)/0.01 = 0.4$:

$$\Phi(1.614) = \Phi(1.61) + 0.0011 \cdot 0.4 = 0.4467.$$

Continuarea tabelului pentru valorile lui $z > 2.5$.

Soluție:

$$\begin{aligned} \text{a) } P(X < 5) &= \frac{1}{2} + \Phi\left(\frac{5-30}{10}\right) = 0,5 + \Phi(-2,5) = 0,5 - \Phi(2,5) = 0,5 - 0,49379 = \\ &= 0,00621 \quad (0,62\%) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} P(X < -5) &= \frac{1}{2} + \Phi\left(\frac{-5-30}{10}\right) = 0,5 + \Phi(-3,5) = 0,5 - \Phi(3,5) = 0,5 - \\ &- 0,499767 = 0,00023 \quad (0,023\%) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b) } P(15 < X < 30) &= \Phi\left(\frac{30-30}{10}\right) - \Phi\left(\frac{15-30}{10}\right) = \Phi(0) - \Phi(-1,5) = \Phi(1,5) = \\ &= 0,43319 \quad (43,319\%) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} P(10 < X < 50) &= \Phi\left(\frac{50-30}{10}\right) - \Phi\left(\frac{10-30}{10}\right) = \Phi(2) - \Phi(-2) = 2 \cdot \Phi(2) = \\ &= 2 \cdot 0,47725 = 0,9545 \quad (94,45\%) \end{aligned}$$

Ultimul calcul arată că probabilitatea, ca valorile variabilei aleatorii X să se afle în intervalul $(\mu - 2\sigma, \mu + 2\sigma)$, cu limitele $\pm 2\sigma = \pm 2 \times 10$ față de valoarea medie $\mu = 30$, este de 0,9545 (95,45%), lungimea intervalului fiind $\Delta = 4\sigma$.

Considerând intervalul valorilor variabilei X situat cu extremitățile la distanțe egale cu multiplu de k abateri medii, $\pm k\sigma$, față de valoarea medie teoretică μ (centrul clopotului lui Gauss) din (1.7), se obține:

$$P(\mu - k\sigma < X < \mu + k\sigma) = \Phi\left(\frac{\mu + k\sigma - \mu}{\sigma}\right) - \Phi\left(\frac{\mu - k\sigma - \mu}{\sigma}\right) = \Phi(k) - \Phi(-k) = 2\Phi(k)$$

iar, dacă în dubla inegalitate $\mu - k\sigma < X < \mu + k\sigma$ se scade μ se obține:

$$\mu - k\sigma - \mu < X - \mu < \mu + k\sigma - \mu \Rightarrow -k\sigma < X - \mu < +k\sigma$$

expresie care se scrie sub forma (în modul) $|X - \mu| < k\sigma$, atunci utilizând acest mod de scriere relația (1.7) devine:

$$P(|X - \mu| < k\sigma) = 2\Phi(k) \quad (1.8)$$

Pe baza relației (1.8), cu datele din TABELUL 1.1, se poate calcula cât trebuie să fie probabilitatea $p = 2\Phi(k)$ (sau procentual $2\Phi(k) \cdot 100$) dacă valorile variabilei aleatorii X sunt situate într-un interval dat $\Delta = 2k\sigma$, centrat față de valoarea medie teoretică (problema directă); sau, invers, fiind dată o anumită probabilitate $p = 2\Phi(k)$ se poate calcula cât trebuie să fie valoarea intervalului $\Delta = 2k\sigma$, centrat față de valoarea medie teoretică, în care sunt situate valorile variabilei aleatorii (problema inversă).

Suportul pentru determinarea unui interval când se cunoaște probabilitatea sau pentru calculul probabilității când se cunoaște un interval sunt relațiile (1.7) și (1.8); prima relație pentru cazul când limitele intervalului sunt oarecare, x_1 și x_2 ,

față de valoarea medie teoretică μ , iar a doua relație când limitele sunt multiplu de abaterea medie, $\pm k\sigma$, față de valoarea medie teoretică μ .

1. Problema directă. Pentru o variabilă X cu distribuție normală să se determine probabilitatea când valorile variabilei aleatorii se situează într-un interval simetric $\Delta = 2k\sigma$, $k = 1, 2, 3, \dots$ (de valoare multiplu de abatere medie), cu limitele $\pm k\sigma$ centrate față de valoarea medie teoretică μ (se cunoaște intervalul, se determină probabilitatea).

Soluție. Cu ajutorul relației (1.8) și a valorilor $\Phi(t)$ din Tabelului 1.1 se obține:

$$k = 1, \quad P(|X - \mu| < \sigma) = 2\Phi(1) = 2 \cdot 0,3413 = 0,6826 \quad (68,26\%)$$

$$k = 2, \quad P(|X - \mu| < 2\sigma) = 2\Phi(2) = 2 \cdot 0,4772 = 0,9544 \quad (95,44\%)$$

$$k = 3, \quad P(|X - \mu| < 3\sigma) = 2\Phi(3) = 2 \cdot 0,4986 = 0,9972 \quad (99,72\%)$$

$$k = 4, \quad P(|X - \mu| < 4\sigma) = 2\Phi(4) = 2 \cdot 0,4999 = 0,9998 \quad (99,98\%)$$

Din punct de vedere practic se constată că o variabilă aleatorie X , cu distribuție normală, în afara intervalului $(\mu - 3\sigma, \mu + 3\sigma)$ are foarte puține valori, sub 0,3%!!, Figura 1.4. Practic, aceasta înseamnă că 99,72% din valorile variabilei aleatorii sunt situate în intervalul $(\mu - 3\sigma, \mu + 3\sigma)$, deci "cozile" funcției densitate de probabilitate (în afara intervalului cu lungimea de 6σ) pot să nu fie luate în calcule.

2. Problema inversă. Pentru o variabilă aleatorie X , cu distribuție normală, să se determine limitele intervalului Δ , centrat în jurul valorii medii μ , în care variabila X are plasate valorile cu o probabilitate $p = 0,5$, adică jumătate din valorile variabilei se situează în acest interval (se cunoaște probabilitatea, se determină intervalul).

Soluție. Utilizând relația (1.8) se poate scrie:

$$P(|X - \mu| < k\sigma) = 2\Phi(k) = p$$

Dar, această relație simplă s-a obținut din relația (1.7) pentru cazul când intervalul Δ are limitele la distanțe egale cu multipli de abatere medie $k\sigma$, $k = 1, 2, 3, \dots$, față de valoarea medie teoretică, μ . Pentru alte limite, diferite de multipli de σ , se va utiliza argumentul $\left(\frac{X - \mu}{\sigma}\right)$ al funcției Φ ca în relația (1.7) în felul următor:

$$2\Phi\left(\frac{X - \mu}{\sigma}\right) = p \rightarrow \Phi\left(\frac{X - \mu}{\sigma}\right) = \Phi(t) = p/2$$

Știind valoare funcție $\Phi(t) = p/2$, atunci din TABELUL 1.1 se citește valoarea argumentului t al funcției, care este egal cu $\left(\frac{X - \mu}{\sigma}\right) = t$, apoi se deduce valoarea

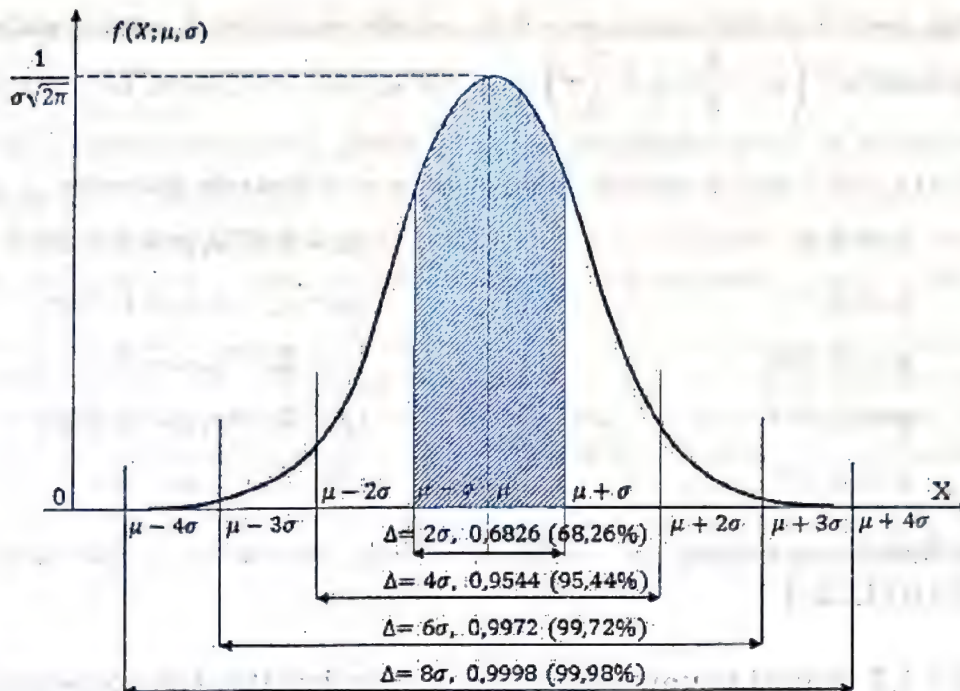


Figura 1.4 Corelația dintre valorile intervalelor multiplu de σ și valorile probabilităților corespunzătoare acestora, reprezentată pe diagrama densității de probabilitate (normală).

semiintervalului $(X - \mu) = t\sigma$, iar extremitățile intervalului vor fi $(\mu - t\sigma, \mu + t\sigma)$. De exemplu, pentru probabilitatea $p = 0,5$ rezultă $\Phi\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right) = \frac{0,5}{2} = 0,25$. valoarea de 0,25 a funcției Φ nu există în tabel, dar există valorile vecine ale funcției de 0,24867 și de 0,25175, deci trebuie realizată o interpolare liniară, între aceste valori, în felul următor:

Valoare funcție: Argument

$$\Phi\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right) \Rightarrow \frac{X-\mu}{\sigma} = t$$

Rezultă semiintervalul $X - \mu$:

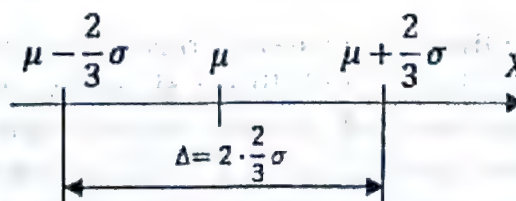
0,2486	0,67	$p/2 = 0,25 \rightarrow \frac{X-\mu}{\sigma} = 0,67 + 0,0045 =$	
0,25	0,67+y		$= 0,6745 = t$
0,2517	0,68		

0,0031	0,01
--------------	------

0,0014	y,
--------------	----

Interpolarea este:

$$y = \frac{14 \cdot 10^{-4} \cdot 10^{-2}}{31 \cdot 10^{-4}} = 0,0045$$



Deci, pentru probabilitatea $p = 0,5$, valorile variabilei X sunt distribuite în intervalul centrat, $\left(\mu - \frac{2}{3}\sigma, \mu + \frac{2}{3}\sigma\right)$, față de μ , sau altfel spus, în acest interval sunt distribuite 50% din valorile variabilei aleatorii. Pentru unele valori uzuale de probabilitate, calculând în același mod, se obțin următoarele intervale:

$p = 0,5$	\rightarrow	$(\mu - 0,67\sigma, \mu + 0,67\sigma)$
$p = 0,950$	\rightarrow	$(\mu - 1,96\sigma, \mu + 1,96\sigma)$
$p = 0,990$	\rightarrow	$(\mu - 2,57\sigma, \mu + 2,57\sigma)$
$p = 0,997$	\rightarrow	$(\mu - 3,00\sigma, \mu + 3,00\sigma)$
$p = 0,999$	\rightarrow	$(\mu - 3,39\sigma, \mu + 3,39\sigma)$

iar într-o formă mai extinsă aceste corespondențe, interval \leftrightarrow probabilitate, sunt date în TABELUL 1.2

TABELUL 1.2. Valori uzuale de intervale și probabilitățile corespunzătoare ale acestora pentru distribuția normală de probabilitate

Valorile limită ale semiintervalelor $\pm \left(\frac{X - \mu}{\sigma}\right) = \pm t$	Intervalul Δ	Probabilitatea [%] ca valorile variabilei să se afle în:	
		Interiorul intervalului Δ ($p\%$)	Exteriorul intervalului Δ ($1 - p\%$)
± 0	0	0	100
$\pm 0,6745$	$\left(\mu - \frac{2}{3}\sigma, \mu + \frac{2}{3}\sigma\right)$	50	50
$\pm 1,00$	$(\mu - \sigma, \mu + \sigma)$	68,26	31,74
$\pm 1,35$	$(\mu - 1,35\sigma, \mu + 1,35\sigma)$	82,3	17,17
$\pm 1,50$	$(\mu - 1,50\sigma, \mu + 1,50\sigma)$	86,6	13,4
$\pm 1,65$	$(\mu - 1,65\sigma, \mu + 1,65\sigma)$	90,1	9,9
$\pm 1,96$	$(\mu - 1,96\sigma, \mu + 1,96\sigma)$	95,0	5,0
$\pm 2,00$	$(\mu - 2\sigma, \mu + 2\sigma)$	95,44	4,56
$\pm 2,50$	$(\mu - 2,5\sigma, \mu + 2,5\sigma)$	99	1
$\pm 3,00$	$(\mu - 3\sigma, \mu + 3\sigma)$	99,72	0,28
$\pm 4,00$	$(\mu - 4\sigma, \mu + 4\sigma)$	99,98	0,02

Observație: există o relație biunivocă - unui interval îi corespunde o anumită probabilitate și invers, unei probabilități îi corespunde un anumit interval. Această afirmație aplicată practicii dintr-un laborator medical exprimă faptul că: pentru un șir de măsurări efectuate asupra unei probe de pacient, ce pot fi estimate că se supun unei distribuții normale, se poate determina

care este probabilitatea pentru care valorile măsurărilor se situează într-un anumit interval sau invers care este valoarea intervalului în care măsurările se situează cu o probabilitate dată.

Din acest tabel, rezultă că pentru probabilitatea de 95% corespunde un semi-interval de $1,96\sigma$, iar pentru probabilitatea de 95,44% corespunde un semiinterval de 2σ , destul de des în practica curentă, pentru simplificare deși cu o mică inexactitate, se consideră pentru probabilitatea de 95% un semiinterval de 2σ .

Exemplul 1.3 În prospectul unei balanțe analogice se specifică faptul că indicațiile de pe cadran sunt în intervalul de $\pm 0,2$ mg și (pentru acest interval $|X - \mu| = 0,2$ mg) prezintă un nivel de încredere de 95% ($p = 0,95$). Să se determine abaterea medie a distribuției normale pentru procesul de măsurare pe balanța respectivă.

Soluție: Pentru probabilitatea de $p = 0,95$, aplicând relația (1.8.) se obține

$$\Phi\left(\frac{X - \mu}{\sigma}\right) = \frac{p}{2} = \frac{0,95}{2} = 0,475$$

iar pentru valoarea funcției Laplace de $\Phi = 0,475$ din TABELUL 1.1 se citește valoarea corespunzătoare a argumentului t

$$t = \left(\frac{X - \mu}{\sigma}\right) = 1,96 \rightarrow X - \mu = 1,96\sigma$$

Deci pentru intervalul ($|X - \mu|$) = 0,2 mg $\rightarrow 0,2$ mg = $1,96\sigma$ se obține $\sigma = 0,2$ mg / $1,96 \approx 0,1$ mg.

1.3 ALTE TIPURI DE DISTRIBUȚII DE PROBABILITATE

Pe lângă distribuția normală există și alte tipuri de distribuții de densitate de probabilitate care sunt utile în tehnica măsurării pentru determinarea incertitudinii unui proces de măsurare, în continuare se vor prezenta unele dintre acestea.

1.3.1 Distribuția de tip dreptunghiulară

Conform reprezentării grafice din Figura 1.5 se pot scrie relațiile

Funcția densitate de probabilitate

$$\begin{aligned} f(x) &= 1/2a && \text{pentru } \mu - a_- \leq X \leq \mu + a_+ \\ f(x) &= 0 && \text{pentru } \mu - a_- > X > \mu + a_+ \end{aligned} \quad (1.9)$$

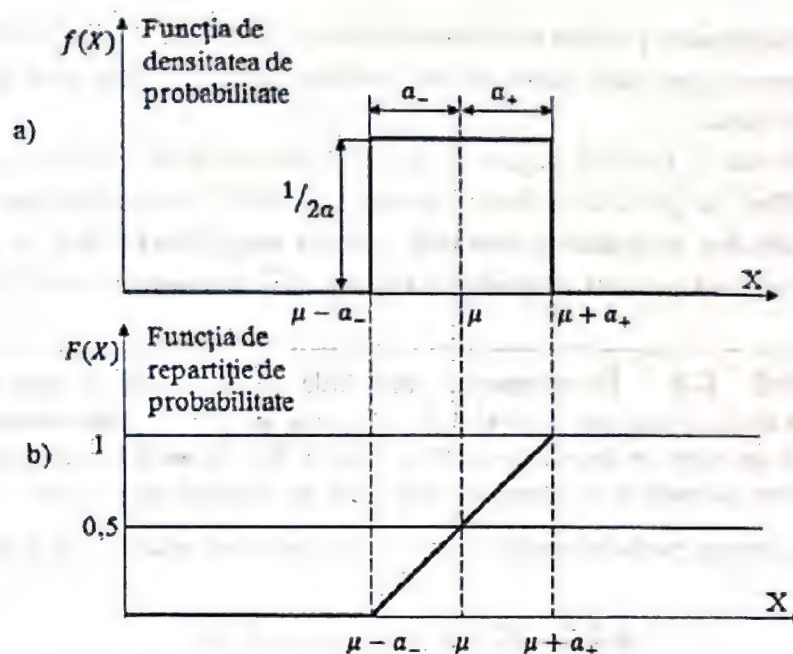


Figura 1.5 Distribuția de tip dreptunghiulară: a) funcția de densitate de probabilitate b) funcția de repartiție de probabilitate

Funcția distribuție de probabilitate

$$\begin{aligned} F(x) &= \frac{1}{2} \left[1 + \frac{X - \mu}{\sigma} \right] && \text{pentru } \mu - a_- \leq X \leq \mu + a_+ \\ F(x) &= 0 && \text{pentru } \mu - a_- > X > \mu + a_+ \end{aligned} \quad (1.10)$$

Informația pentru o repartiție dreptunghiulară este următoarea:

- Pentru toate valorile observate ale variabilei aleatorii X probabilitatea ca acestea să se afe în intervalul $[\mu - a_-, \mu + a_+]$ este egală cu 1, iar probabilitatea ca valorile variabilei X să fie în afara intervalului este egală cu 0.
- Fiecare valoare a variabilei aleatorii X situată în interiorul intervalului este echiprobabilă, cu densitatea de probabilitate $1/2a$; ($1/2a \cdot 2a = 1$, suprafața dreptunghiulară este egală cu 1).

În general, pentru aplicațiile de metrologie, intervalul considerat la o distribuție dreptunghiulară este simetric față de valoarea medie, adică limitele $(\mu - a_-)$ și $(\mu + a_+)$ sunt echidistante față de medie (mijlocul repartiției dreptunghiulare), $a_- = a_+ = a$, $|X - \mu| \leq a$

Pentru o distribuție dreptunghiulară parametrii sunt:

- Dispersia / Varianța

$$D(X) = \frac{[(\mu + a_+) - (\mu - a_-)]^2}{12}$$

iar pentru $a_+ = a_- = a \rightarrow D(X) = \frac{4a^2}{12} = \frac{a^2}{3}$ (1.11)

- Abaterea medie (teoretică)

$$\sigma^2 = D(X) \rightarrow \sigma = \sqrt{a^2/3} = \frac{a}{\sqrt{3}} \quad (1.12)$$

Exemplul 1.4 Un etalon de lungime x este specificat prin $x \pm a$.

Rezultă:

Varianța $D(X) = a^2/3$

Abaterea medie $\sigma = \frac{a}{\sqrt{3}}$

Exemplul 1.5 În certificatul care însoțește un metal, este specificată puritatea $99,99 \pm 0,01\%$. Deoarece nu este nici o altă informație se consideră o distribuție rectangulară pentru această puritate ($0,9999 \pm 0,0001$); valoarea semiintervalului este $a = 0,0001 = 10^{-4}$

Rezultă:

Varianța $D(X) = \frac{a^2}{3} = \frac{(10^{-4})^2}{3}$

Abaterea medie $\sigma = \frac{a}{\sqrt{3}} = \frac{10^{-4}}{1,73} = 0,000058$

Exemplul 1.6 Cu o balanță digitală, care are o acuratețe pe display de două zecimale, se determină o masă de 100,28 g. Pentru balanța cu citire digitală se consideră o distribuție rectangulară care are semiintervalul a egal cu $1/2$ din ponderea zecimală a ultimei cifre indicate pe display; în acest caz, ultima cifră indicată este 8 și are ponderea 10^{-2} .

$$100,28 = 1 \cdot 10^2 + 0 \cdot 10^1 + 0 \cdot 10^0 + 2 \cdot 10^{-1} + 8 \cdot 10^{-2}, \text{ deci } a = 1/2 \cdot 10^{-2} = 0,5 \cdot 10^{-2} = 5 \cdot 10^{-3}$$

Rezultă:

Varianța $D(X) = \frac{a^2}{3} = \frac{(5 \cdot 10^{-3})^2}{3} = 8,33 \cdot 10^{-6}$

Abaterea medie $\sigma = \sqrt{D(X)} = a/\sqrt{3} = \frac{5 \cdot 10^{-3}}{1,73} = 0,0029\text{g}$

- Modul de formare a cifrelor la un instrument digital este reprezentat în Figura 1.6:

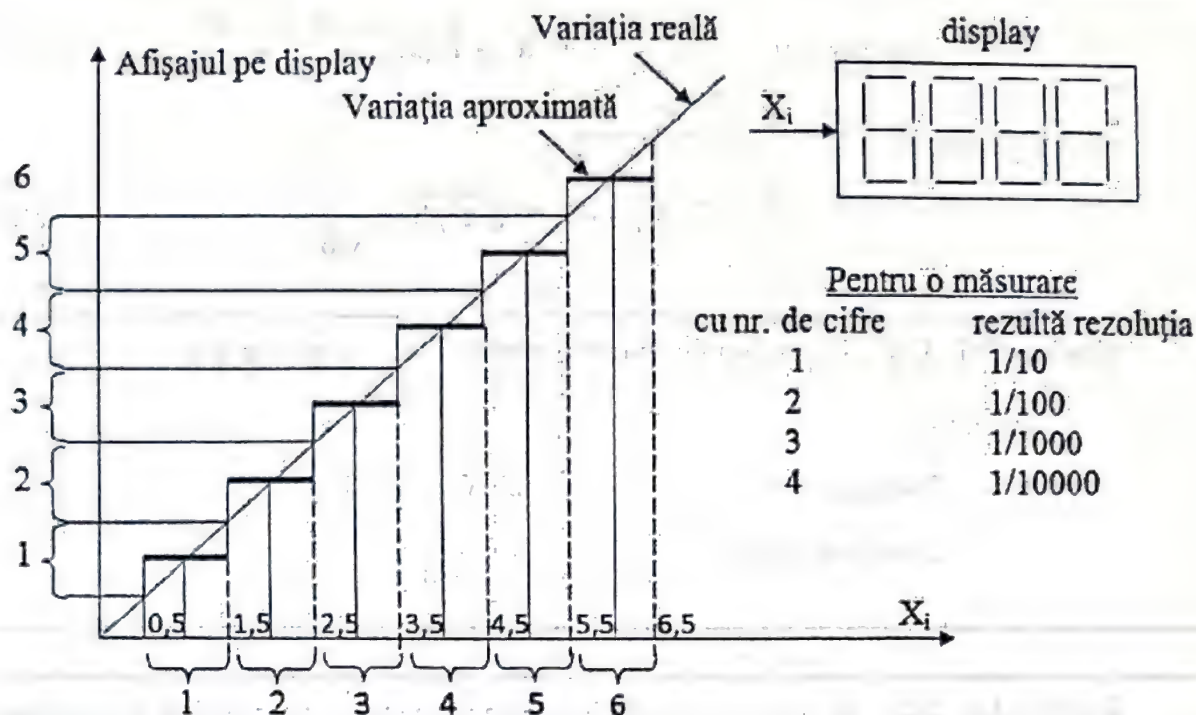


Figura 1.6 Explicație pentru modul de formare a digiților pentru o afișare pe un display digital

Un instrument digital poate indica pe display valori măsurate cu o acuratețe egală cu ponderea zecimală a ultimei cifre. De exemplu, pentru display-ul din figură, cu patru digiți, se pot afișa numere de la 0-9999, din unitate în unitate (ponderea ultimului digit este $10^0 = 1$), nu se poate afișa un număr cu zecimale cum ar fi 2,8. Pentru valoarea măsurată de 2,8 instrumentul va afișa numărul 3, dar pentru toate valorile cuprinse în intervalul $(2,5 \text{ } 3,5]$ se va afișa numărul 3 și la fel pentru toate valorile măsurate în intervalul $(3,5 \text{ } 4,5]$ se va afișa numărul 4. Rezultă că un digit din ultima poziție de pe display, care are ponderea $10^0 = 1$, acoperă un interval de $\pm 0,5$ $\left(0,5 = \frac{1}{2} \times 10^0\right)$ pentru valorile mărimii măsurabile. Dacă pe un display ultima cifră afișată ar fi zecimi (10^{-1}) atunci această cifră afișată acoperă un interval de $\pm 0,05$ $\left(1/2 \times 10^{-1} = \frac{1}{2} \times \frac{1}{10} = 0,05\right)$ pentru valorile mărimii măsurate. Aceasta explică de ce se consideră, pentru mărimile măsurate cu un instrument digital, o distribuție rectangulară cu semiintervalul egal cu 1/2 din ponderea zecimală a ultimei poziții de pe display.

1.3.2 Distribuția de tip trapezoidală

Pentru distribuția dreptunghiulară, de multe ori, este mai realist să se considere că valorile variabilei aleatorii X sunt mai puțin probabile să fie situate când se apropie de limitele intervalului, $\mu - a_-$ și $\mu + a_+$ decât valorile situate spre punctul de mijloc (media teoretică μ). În această abordare este rezonabil ca distribuția dreptunghiulară simetrică pentru funcția de densitate de probabilitate să fie înlocuită cu o distribuție de tip trapezoidală, Figura 1.7. Se consideră pentru acest trapez baza mare $\mu + a_+ - (\mu - a_-) = 2a$ și baza mică $2a\beta$ unde $0 \leq \beta \leq 1$; din distribuția de tip trapezoidală când valoarea parametrului este $\beta = 1$ se obține o distribuție dreptunghiulară, iar când $\beta = 0$ se obține o distribuție triunghiulară. Pentru distribuția trapezoidală cei doi parametri, considerând $a_- = a_+ = a$, sunt:

- Dispersia/Varianța
$$D(X) = \frac{a^2(1 + \beta^2)}{6} \quad (1.13)$$

- Abaterea medie
$$\sigma = a\sqrt{\frac{1 + \beta^2}{6}} \quad (1.14)$$

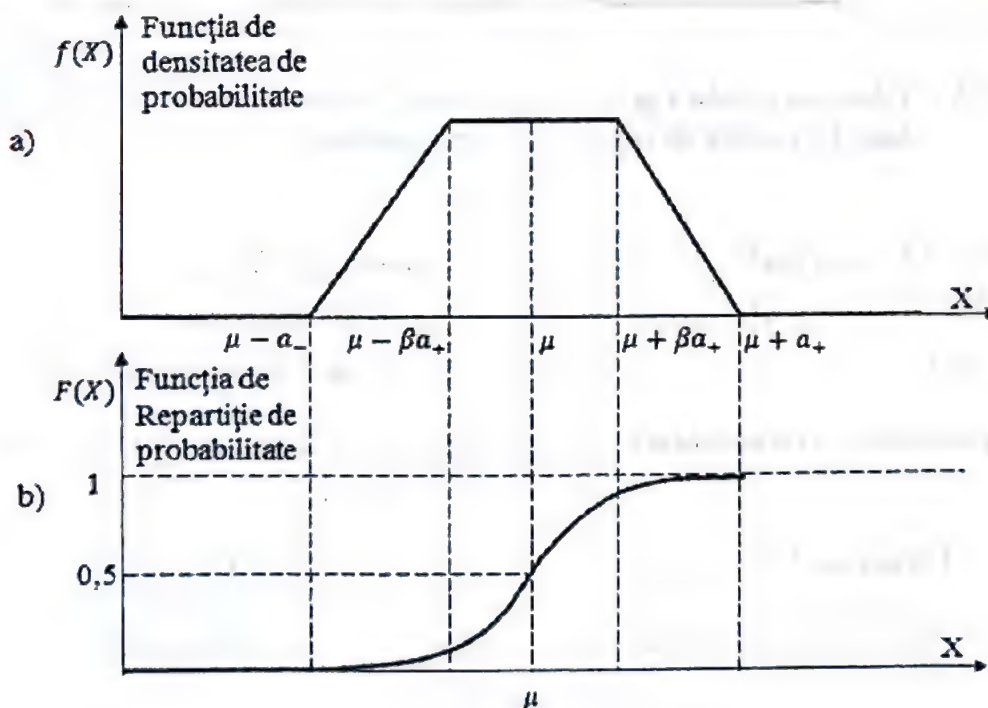


Figura 1.7 Distribuția de tip trapezoidală: a)-funcția de densitate de probabilitate; b)-funcția de repartiție de probabilitate

1.3.3 Distribuția de tip triunghiulară

Distribuția de tip triunghiulară, Figura 1.8, se obține din cea de tip trapezoidală când coeficientul $\beta = 0$. Funcția densitate de probabilitate

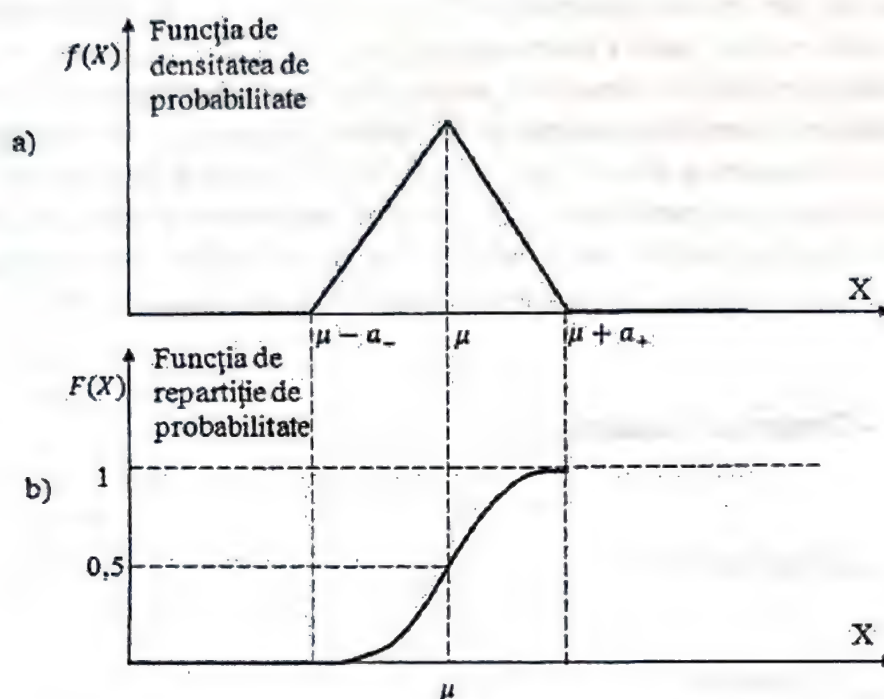


Figura 1.8 Distribuția de tip triunghiulară: a)-funcția de densitate de probabilitate; b)-funcția de repartiție de probabilitate

$$\begin{aligned}
 f(X) &= (X - a_-)/a^2 && \text{pentru} && \mu - a_- \leq X \leq \mu \\
 f(X) &= (a_+ - X)/a^2 && \text{pentru} && \mu \leq X \leq \mu + a_+ \\
 f(X) &= 0 && \text{pentru} && X < \mu - a_- \text{ și } X > \mu + a_+
 \end{aligned} \quad (1.15)$$

Pentru distribuția triunghiulară cei doi parametri, considerând $a_- = a_+ = a$, sunt:

$$\begin{aligned}
 &\text{- Dispersia / Varianța} && D(X) = a^2/6 && (1.16)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &\text{- Abaterea medie (teoretică)} && \sigma = a/\sqrt{6} && (1.17)
 \end{aligned}$$

Exemplul 1.7 Pentru un vas de laborator, din sticlă, fabricantul a marcat volumul nominal $100 \text{ mL} \pm 0,1 \text{ mL}$ (la temperatura de 20°C). Să se determine abaterea medie (teoretică) pentru acest vas.

Soluție. Nefiind nici o altă informație se consideră o distribuție de tip triunghiulară,

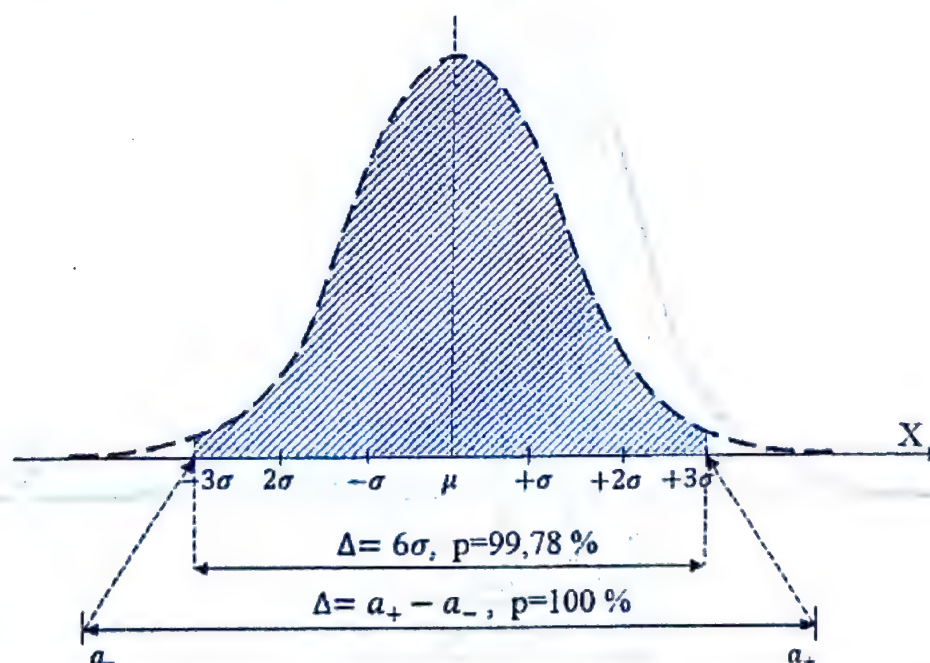
care este mai rezonabilă decât una dreptunghiulară; această afirmație se bazează pe faptul că într-un proces de producție valoarea nominală pentru produs este mai probabilă decât extremele. Pentru semiintervalul $a = 0,1$ mL aplicând relația (1.17) se obține:

$$\sigma = \frac{0,1 \text{ mL}}{\sqrt{6}}$$

1.3.4 Distribuția de tip aproximativ normală

Există cazuri când informația cunoscută se enunța în felul următor: "distribuția valorilor variabilei aleatorii se situează între o limită inferioară a_- și o limită superioară a_+ ", fără a avea nici o informație despre tipul de funcție de densitate de probabilitate în acest interval (a_-, a_+) . Se poate admite atunci că distribuția se apropie de una normală - "aproximativ normală".

Pentru distribuția normală, 99,73% din valorile variabilei aleatorii sunt situate în intervalul $(\mu - 3\sigma, \mu + 3\sigma)$, în afara intervalului de 6σ plasându-se doar $\approx 0,3\%$ ("cozile") din valorile variabilei. Bazat pe această constatare, pentru distribuția care are 100% din valori în intervalul (a_-, a_+) , se poate considera echivalența: limita inferioară a_- corespunde lui $\mu - 3\sigma$ și limita superioară a_+ corespunde lui $\mu + 3\sigma$; adică se substituie intervalul care conține 100% din valori cu unul care conține 99,73% din valori. Prin această substituție de limite, ca în desenul de mai jos, implicit, se consideră și o distribuție normală, în consecință se aplică relațiile de la distribuția normală.



Se obțin astfel, pentru distribuția aproximativ normală, parametrii $\frac{(a_+ - a_-)}{2} = a$:

- Dispersia / Varianța

$$D(X) = a^2/9 \quad (1.18)$$

- Abaterea medie (teoretică) $\sigma = a/\sqrt{9} = a/3$ (1.19)

Exemplul 1.8 Pe baza informațiilor disponibile este posibil să se afirme "există o șansă din două (deci o probabilitate $p = \frac{1}{2} = 0,5$) ca valoarea unei variabile aleatorii să se afle în intervalul (a_-, a_+) ". Să se determine abatere medie σ pentru această variabilă aleatorie.

Soluție. În lipsă de altă informație se consideră pentru această variabilă o distribuție aproximativ normală cu valoarea medie μ în mijlocul intervalului iar lungimea semiintervalului este $a = (a_+ - a_-)/2$.

Pe baza relației (1.8), calculele sunt identice ca în - problema inversă - de pe pagina 18, se obține $2\Phi\left(\frac{X - \mu}{\sigma}\right) = 0,5 \rightarrow \Phi\left(\frac{X - \mu}{\sigma}\right) = \frac{0,5}{2} = 0,25$ iar din Tabelul 1.1 pentru valoarea de 0,25 pentru funcție se citește valoarea argumentului $t = \frac{X - \mu}{\sigma} = 0,675 = 2/3 \rightarrow$ deci $X - \mu = \frac{2}{3}\sigma$ este semiintervalul în care sunt plasate jumătate din valorile variabilei.

$$|X - \mu| = a \rightarrow a = \frac{2}{3}\sigma \rightarrow \sigma = \frac{3}{2}a = 1,5a$$

cu reprezentarea din Figura 1.9

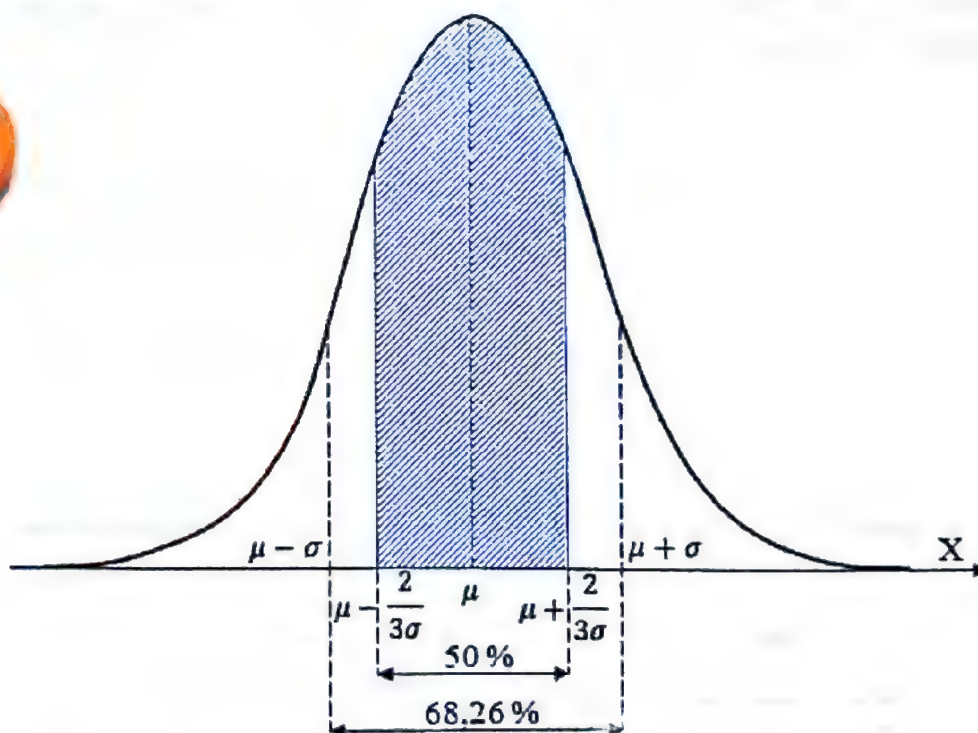


Figura 1.9 Explicativă pentru Exemplul 1.8

TABELUL 1.3. PARAMETRII CARACTERISTICI PENTRU TIPURILE DE DISTRIBUȚII UZUALE.

Tip de Distrib. Parametru	Normală	"Aproximativ normală" *	Triunghiulară *	Trapezoidală *	Dreptunghiulară *
Dispersia	σ^2	$a^2/9$	$a^2/6$	$a^2(1 + \beta^2)/9$	$a^2/3$
Abaterea medie (teoretică)	σ	$a/\sqrt{9}$	$a/\sqrt{6}$	$a\sqrt{\frac{1 + \beta^2}{6}}$	$a/\sqrt{3}$

* Valoarea medie teoretică se calculează cu

$$\mu = (\text{Limita superioară} + \text{Limita inferioară})/2$$

* Pentru intervalul considerat s-a calculat un semiinterval

$$a = (\text{Limita superioară} - \text{Limita inferioară})/2$$



Capitolul 2

MĂSURARE, STATISTICĂ, VALIDARE

Exemplul 2.1 În urma măsurării repetate a unei probe de glucoză în ser s-a obținut următorul șir de valori:

Numărul măsurării	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Valoarea măsurată mg/dL	93.5	87,5	89,5	92	98	90,5	94,5	85	94	83

11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
97	119	86	92	95	91	88	95,5	91	89	9,5	69	91,5	88,5	101

Să se reprezinte grafic rezultatul măsurărilor. O reprezentare grafică poate fi mult mai explicativă și intuitivă pentru a analiza decât un șir de valori. Pot fi realizate următoarele două forme de reprezentare grafică pentru șirul de valori obținute:

- Reprezentarea în timp**, Figura 2.1-a. Axa ordonatelor corespunde mărimii măsurate, valorile măsurate [mg/dL], iar axa absciselor corespunde numărului măsurării efectuate - succesiunea în timp.
- Reprezentarea în domeniul frecvență**, Figura 2.1-b. Axa absciselor corespunde mărimii măsurate [concentrație în mg/dL], pe care s-au marcat intervale unitare (fiecare interval unitar este egal cu 3 unitați de concentrație), iar ordonata corespunde numărului de măsurări încadrate într-un interval unitar, adică o reprezentare sub formă de histogramă. Numărul de măsurări încadrate într-un interval unitar (aceste numere pe grafic sunt 1,2,5,7,5,2,1) este în fond o măsură a frecvenței pe unitate (vezi pagina 5), deci reprezentarea, curba trasată cu linie întreruptă, este densitatea de probabilitate în funcție de mărimea (aleatorie) măsurată, reprezentare similară cu cea din Figura 1.2.

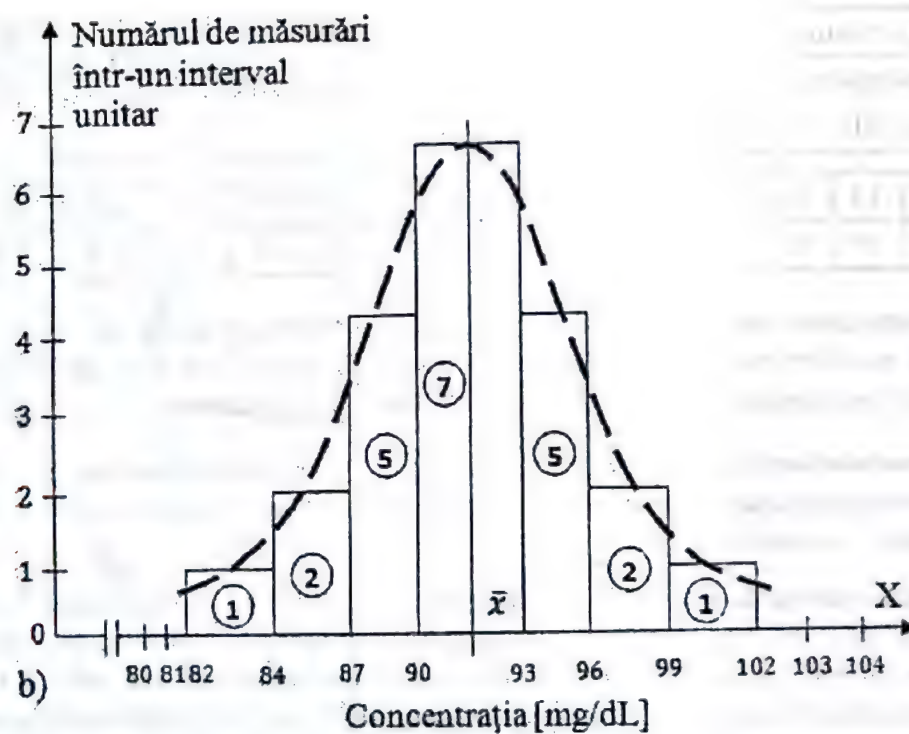
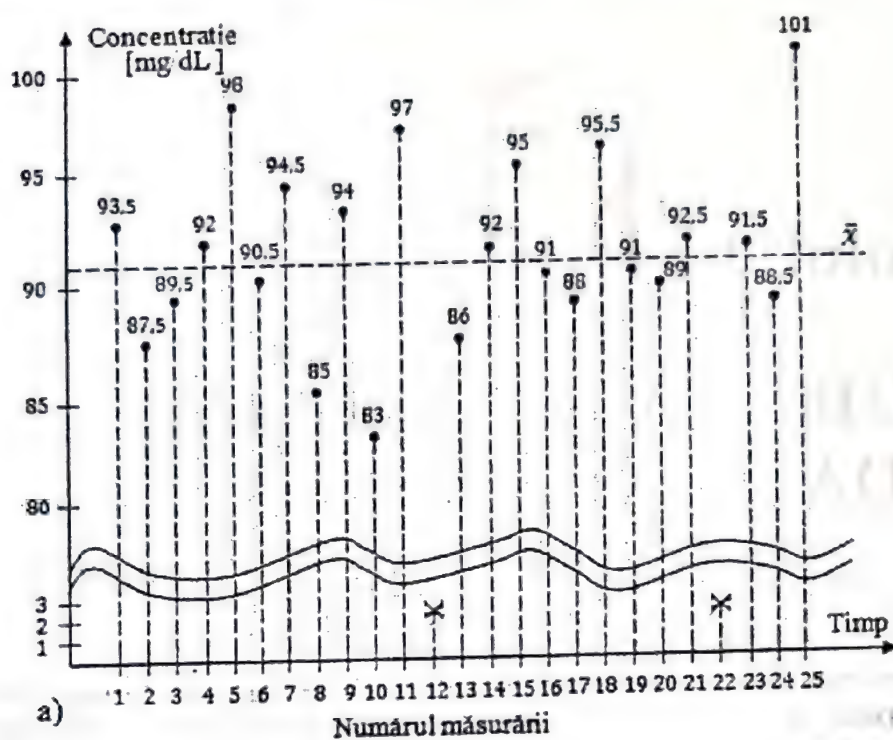


Figura 2.1 Forme de reprezentare a unui șir de măsurări: a) reprezentarea în timp; b) reprezentarea în domeniul frecvență

2.1 MĂSURARE

• **Măsurarea** este un ansamblu de operații prin care se determină valoarea unei mărimi. Se impune ca măsurarea să înceapă cu definirea corectă a măsurandului și a metodei de măsurat, concretizată printr-o procedură de măsurare.

• **Mărime (măsurabilă)** este un atribut al unui fenomen, al unui corp sau al unei substanțe, care este susceptibil a fi diferențiat calitativ și determinat cantitativ. O mărime când este supusă măsurării, în general, este referită ca măsurand.

• **Măsurarea ca fundamentare științifică**, se bazează un principiu de măsurare (de exemplu, efectul Doppler ca bază pentru măsurarea vitezei, efectul termoelectric ca bază pentru măsurarea temperaturii, efectul Josephson ca bază pentru măsurarea tensiunii electrice, spectroscopia de absorbție atomică - interacțiunea materiei cu diferite frecvențe ale spectrului electromagnetic - ca bază în determinarea concentrațiilor componentelor din soluții etc).

• **Metoda de măsurare** constă în succesiunea logică a operațiilor, descrise în mod generic, care se aplică în efectuarea măsurărilor (metoda substituției, metoda diferențială, metoda de zero etc).

• **Procedura de măsurare** este o descriere detaliată a fazelor prin care metoda de măsurare este implementată pentru o măsurare. Această descriere trebuie să fie suficient de detaliată astfel încât un operator să poată efectua măsurarea fără a avea nevoie de informații suplimentare. Procedura de măsurare, prezentată sub forma unui document, este, uneori, referită chiar ca metodă de măsurare (incorect!).

• **Rezultat al măsurării**, valoare atribuită unui măsurand obținută prin măsurare. Această valoare, care este expresia cantitativă a măsurandului, se exprimă în general sub forma unei unități de măsură înmulțită cu un număr.

- lungimea unei bare: 3,48 m (sau 348 cm, $3,48 \cdot 10^6 \mu\text{m}$, $3,43 \cdot 10^9 \text{ nm}$)
- masa unui corp: 0,453 kg (sau 453 g, $453 \cdot 10^3 \text{ mg}$, $453 \cdot 10^6 \mu\text{g}$)
- cantitatea de substanță, de exemplu o probă de apă (H_2O): 0,053 mol (sau 12 mmol)
- concentrația unui analit: 93 mg/dL ; 5,16 mmol/dL. Conversii utile, din sistemul vechi - mg/dL - în sistemul nou, Sistemul Internațional (S.I.) - mmol/dL - pot fi găsite în [20]. SI este sistemul metric care a fost acceptat în majoritatea țărilor pentru utilizare în știință, medicină, industrie și comerț. SI este un sistem coerent bazat pe șapte mărimi de bază: lungime (metru, m); masă (kilogram, kg); timp (secunda, s); curent electric (amper, A); temperatură (grad Kelvin, K); Intensitate luminoasă (candela, cd); cantitatea de substanță (molul, mol).

Probabilitatea p ca o măsurare să se situeze
în afara limitelor $\pm z \left(= \frac{X - \bar{x}}{s} \right)$

$\pm Z$	P
± 1	31,7% (una din 3)
$\pm 1,65$	9,9% (una din 10)
± 2	4,5% (una din 22)
$\pm 2,5$	1,2% (una din 33)
± 3	0,3% (una din 333)
$\pm 3,5$	0,05% (una din 2000)

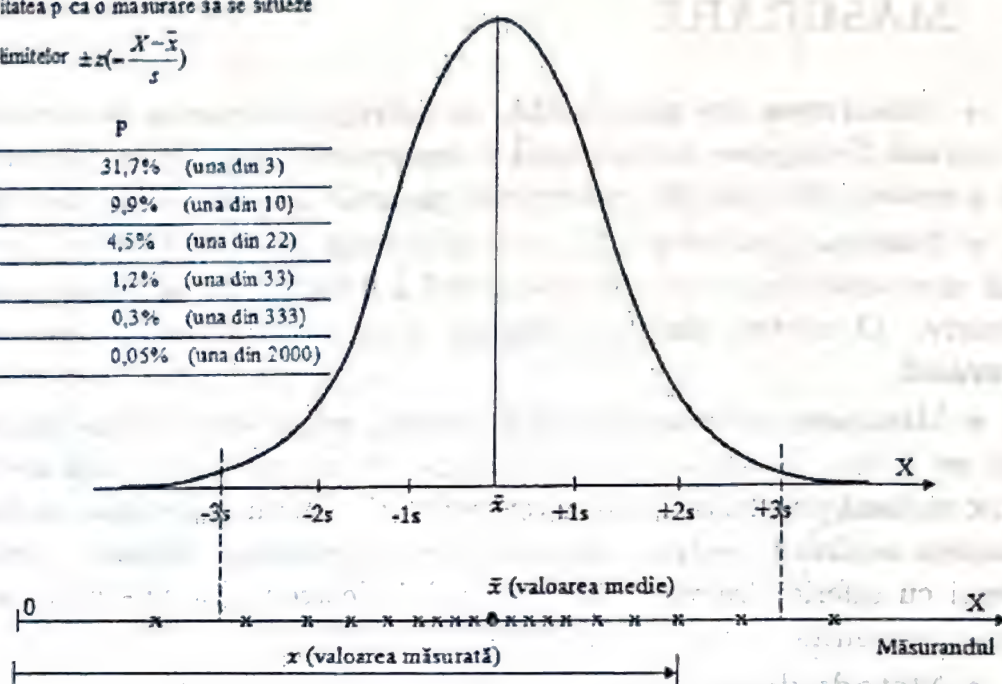


Figura 2.2 Distribuția valorilor într-un șir de măsurări efectuate asupra unui măsurand (în condiții identice de măsurare)

Efectuând un șir de măsurări/observații asupra măsurandului/probei, în aceleași condiții de măsurare, se constată că valorile obținute sunt grupate în jurul unei valori medii \bar{x} și distribuția acestora, pentru un număr mare de măsurări, se supune distribuției normale, Figura 2.2. Se pune întrebarea, care este de fapt valoarea x a măsurandului? Pentru a caracteriza cea mai bună estimatie a măsurandului șirul de valori obținut prin măsurare se prelucrează statistic.

2.2 STATISTICĂ

Printr-o prelucrare statistică, asupra unei populații sau asupra șirului de rezultate ale unor măsurări succesive, se obține un număr sau câteva numere (o mărime statistică sau câteva) care exprimă concentrat o informație și care constituie un instrument în clarificarea caracterizării acelei populații sau acelor măsurări. Dar, când statistica nu este înțeleasă sau nu este evidențiată finalitatea prelucrării statistice se obține efectul invers, crează confuzii în loc de clarificări. *Prin prelucrare statistică se poate evidenția calitatea testelor într-un laborator medical.*

Pentru procesarea unui șir de valori/date, obținut în urma măsurării repetate a unui măsurand, se introduc următoarele mărimi de calcul (statistici).

• **Media aritmetică** - câtul între suma tuturor valorilor x_i ale șirului, obținute prin măsurare și numărul total de măsurări n din șir.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (2.1)$$

Media aritmetică este referită și ca **media experimentală**, deoarece se referă la rezultatul unui calcul asupra datelor (șir de date) experimentale obținute pe un eșantion. Media experimentală a unui eșantion, preluat dintr-o populație, este o estimare fără deplasare a mediei teoretice μ (vezi relația 1.2) a acelei populații; media experimentală se consideră cea mai bună estimare a mediei teoretice, pe baza datelor de care se dispune. Media aritmetică exprimă valoarea spre care se "centrează" datele din șirul de valori obținut în urma măsurărilor.

O altă mărime de calcul utilizată, tot în acest sens de centrare, este **valoarea mediană** care exprimă acea valoare din șirul de măsurări în raport cu care jumătate dintre valorile din șir sunt mai mari decât aceasta și jumătate dintre valori sunt mai mici. Deoarece valoarea mediană nu este influențată, precum este media aritmetică, de mărimea valorilor extreme din șirul de măsurări, rezultă că aceasta constituie o măsură mai robustă a tendinței de centrare decât exprimarea prin media aritmetică.

• **Abaterea standard experimentală**, pentru un șir de n măsurări ale aceluiasi măsurand X , este mărimea notată prin $s(x)$, care caracterizează dispersia/variabilitatea rezultatelor și se calculează cu relația:

$$s(x) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (2.2)$$

în care x_i este rezultatul celei de a i -a măsurări din șir, iar \bar{x} este media aritmetică a celor n rezultate considerate (calculată cu relația 2.1). (Pătratele diferențelor $(x_i - \bar{x})^2$ dintre fiecare valoare măsurată și valoarea medie se însumează, se împarte la $(n-1)$, iar din numărul rezultat se extrage rădăcina pătrată - valoarea obținută este abaterea standard experimentală). Abaterea standard experimentală are aceeași dimensiune ca și mărimea măsurată. Dacă pentru un proces de măsurare concret se consideră șirul de n valori obținute ale lui X , ca un eșantion al unei distribuții normale de probabilitate, atunci \bar{x} este un estimator fără deplasare al mediei teoretice μ (relația 1.2), iar $s(x)^2$ este un estimator fără deplasare al varianței $D(x) = \sigma^2$, adică un estimator de variabilitate/dispersie. Abaterea standard experimentală este rădăcina pătrată pozitivă din dispersie/varianță (relația 1.3). Foarte frecvent, abaterea standard experimentală este referită ca deviația standard, SD (Standard Deviation).

• **Abaterea standard relativă, RSD (Relative Standard Deviation)** este definită ca raportul dintre abaterea standard experimentală $s(x)$, relația (2.2), și

media aritmetică \bar{x} , relația (2.1)

$$RSD = \frac{s(x)}{\bar{x}} = \frac{1}{\bar{x}} \cdot \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (2.3)$$

Mai frecvent, este utilizat Coeficientul de Variație, CV, care este abaterea standard relativă dar exprimată procentual

$$CV\% = \frac{s(x)}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (2.4)$$

și care, la fel ca abaterea standard experimentală sau cea relativă, este un indicator de variabilitate pentru procesul de măsurare (este adimensional). CV exprimă cât este abaterea standard experimentală, ca procent, din valoarea medie.

- Abaterea standard experimentală a mediei se calculează cu relația

$$s(\bar{x}) = \frac{s(x)}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}} \quad (2.5)$$

Această mărime de calcul exprimă cantitativ cât de bine media aritmetică experimentală \bar{x} , relația (2.1), estimează media teoretică μ (relația 1.2). Pentru a se garanta o estimatie suficient de bună a mediei teoretice prin media experimentală trebuie ca numărul de observații/măsurări să fie suficient de mare ($n > 30$) pentru variabila aleatorie X . Estimarea mediei teoretice prin media aritmetică este dată de relația:

$$\mu = \bar{x} \pm t \cdot \frac{s(x)}{\sqrt{n}} \quad (2.6)$$

unde t este un parametru obținut din distribuția de probabilitate Student (TABELUL 3.4), parametru care este dependent atât de numărul de grade de libertate ν (vezi relația 3.16) cât și de nivelul de încredere (probabilitatea p). Din această relație se confirmă afirmația anterioară, că numai pentru un număr foarte mare de măsurări ($n \rightarrow \infty$) ale probei, media aritmetică \bar{x} devine egală cu media teoretică μ .

Graficul distribuției de probabilitate de tip Student, Figura 2.3, este similar cu cel al distribuției normale, Figura 1.3-a, dar mai plat și cu mai multe valori în "cozi". Pentru un număr relativ mic de măsurări ale unei probe distribuția Student este un model matematic mai potrivit pentru procesul de măsurare, când numărul de măsurări crește ($n \rightarrow \infty$) această distribuție tinde să se suprapună peste distribuția normală.

Pentru procesul de măsurare din Exemplul 2.1 valorile mărimilor statistice introduse mai sus sunt: $\bar{x} = 2105,5/23 = 91,54$ mg/dL; $SD = \sqrt{405,2948/(23-1)} = 4,29$ mg/dL; $CV = (4,29/91,54) \cdot 100 = 4,6\%$; $\mu = 91,54 \pm 2,07(4,29/\sqrt{23}) =$

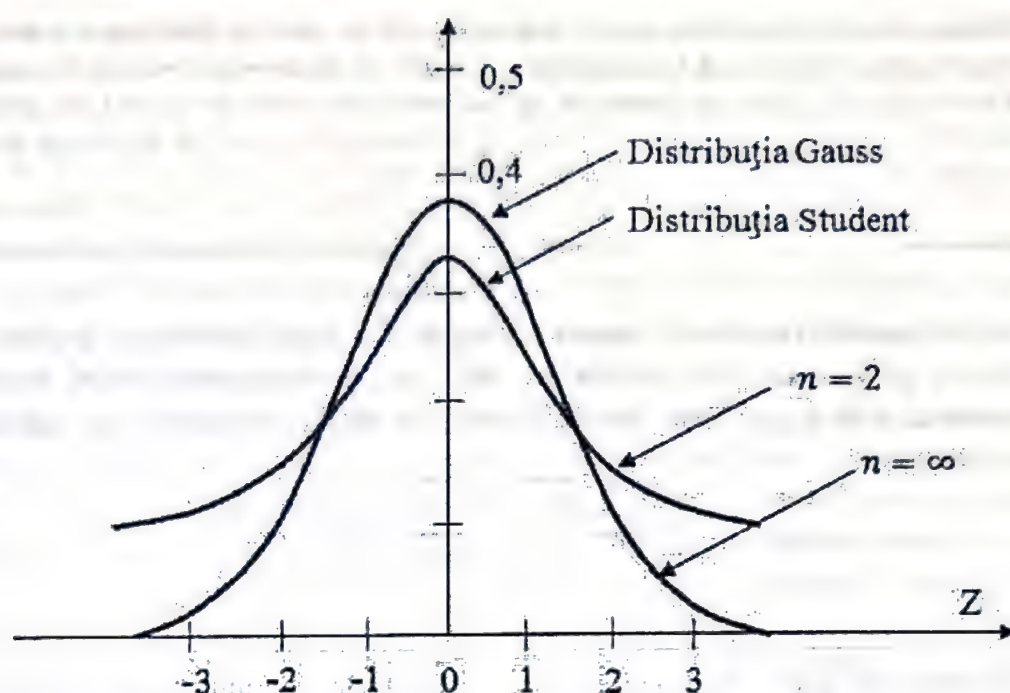


Figura 2.3 Distribuția de tip Student pentru $n = 2$ și $n = \infty$ (când devine identică cu distribuția normală)

$91,54 \pm 1,85$ mg/dL (pentru $n = 23$ și probabilitatea de 95% din Tabelul 3.4 rezultă $t = 2,07$)

Exemplul 2.2 Concentrația (exprimată procentual) unui analit într-o soluție este determinată prin trei măsurări consecutive și rezultă șirul de valori: 93,50%; 93,58% și 93,58%. Să se determine intervalul (de încredere) în care se situează valoarea mediei teoretice când se consideră nivelul de încredere (probabilitate p) de: (a) 95%, (b) 99%.

Soluție: Se calculează media experimentală și abaterea medie experimentală (ambele au dimensiunea de concentrație):

$$\bar{x} = \frac{93,50 + 93,58 + 93,43}{3} = 93,50\%$$

$$s(x) = \sqrt{\frac{0 + 0,08^2 + (-0,07)^2}{3 - 1}} = \sqrt{\frac{0,0113}{2}} = 0,075\%$$

- a) Pentru nivelul de încredere $p = 95\%$ și un număr de grade de libertate $\nu = 3 - 1 = 2$ rezultă din TABELUL 3.4 coeficientul $t = 4,303$, deci limitele intervalului de încredere, conform relației (2.6), sunt

$$\mu = \bar{x} \pm t \cdot \frac{s(x)}{\sqrt{n}} = 93,50 \pm 4,303 \cdot \frac{0,075}{\sqrt{3}} = (93,50 \pm 0,19)\%$$

ceea ce înseamnă că valoarea adevărată se situează cu probabilitate de 95% în intervalul 93,31% - 93,69%.

- b) Pentru nivelul de încredere $p = 99\%$ și un număr de grade de libertate $\nu = 3 - 1 = 2$ rezultă din TABELUL 3.4 coeficientul $t = 9,92$, cu limitele intervalului de încredere $93,50 \pm 0,43\%$, ceea ce înseamnă că valoarea adevărată se situează în intervalul $93,07\% - 93,93\%$ (deci probabilitatea ca valoarea adevărată să se situeze în afara acestui interval este de numai $100\% - 9\% = 1\%$).

• **Abaterea standard comună (Pooled Standard Deviation)**, pentru două șiruri de n_1 și n_2 măsurări, cu abatere standard experimentală $s_1(x)$ respectiv $s_2(x)$, notată prin $s_{12}(x)$, care compară statistic abaterile acestora se calculează cu relația

$$s_{12}(x) = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) \cdot s_1^2(x) + (n_2 - 1) \cdot s_2^2(x)}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1)}} \quad (2.7)$$

Exemplul 2.3 Un operator determină concentrația unui analit prin trei serii de măsurări, dar pentru fiecare serie utilizează un reactiv dintr-un alt lot (I, II, III), rezultatele sunt prezentate în următorul tabel:

Lot reactiv	I	II	III
Număr de măsurări, n	10	8	9
Numărul de grade de libertate, ($\nu = n - 1$)	9	7	8
Media aritmetică, (\bar{x})	3,3740	3,1913	3,6000
Abaterea standard experimentală, $s_i(x)$	0,3295	0,8060	0,3766
RSD, ($s(x)/\bar{x}$)	0,0977	0,2526	0,1046

Rezultă abaterea standard comună

$$s_{1,2,3}(x) = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) \left(\frac{s_1(x)}{\bar{x}_1}\right)^2 + (n_2 - 1) \left(\frac{s_2(x)}{\bar{x}_2}\right)^2 + (n_3 - 1) \left(\frac{s_3(x)}{\bar{x}_3}\right)^2}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1) + (n_3 - 1)}} = 0,3809$$

2.3 EXACTITATE ȘI PRECIZIE

Între valoarea rezultată x a măsurării unui măsurand X (cu x literă mică se notează o valoare particulară a unei variabile X) și valoarea a (convențional adevărată) a măsurandului, există o diferență

$$\epsilon = x - a \quad (2.8)$$

referită ca **eroare de măsurare**. Orice măsurare este însoțită de eroare! Eroarea de măsurare, ϵ , este de obicei necunoscută, deoarece nu se cunoaște însăși adevăra-

ta valoare a , a mărimii măsurate, cu excepția cazului când se măsoară mărimi cunoscute (etalon), iar astfel de măsurări se fac doar cu scopul special de a studia erorile de măsurare, de exemplu atunci când se etalonează un aparat.

- **Valoarea adevărată** (a unei mărimi) - valoarea care este obținută printr-o măsurare perfectă, dar după cum o măsurare perfectă nu se poate realiza înseamnă că nici valoarea adevărată a măsurandului nu se cunoaște. Valoarea convențional adevărată (a unei mărimi) sau referită uneori valoare de referință reprezintă acea valoare atribuită unei mărimi și care este acceptată, adesea, prin convenție ca având o incertitudine potrivită pentru un scop precizat.

Pentru a obține o valoare adevărată trebuie realizată o măsurare perfectă, aceasta înseamnă că măsurandul trebuie definit cu suficiente detalii astfel încât orice incertitudine care rezultă din definirea lui incompletă să fie neglijabilă în comparație cu exactitatea necesară măsurării, ceea ce trebuie recunoscut că, practic, nu este realizabil. Rezultă că noțiunea de valoare "adevărată" unică nu este decât un concept idealizat. Într-o anumită situație, valoarea atribuită unei mărimi realizate pe baza unui etalon de referință poate fi considerată valoare convențional adevărată (valoare de referință).

Prin analiza erorii de măsurare, și nu asupra unei singure măsurări ci asupra unei serii de măsurări a mărimii de măsurat, se pot identifica componentele erorii și, în consecință, corecta valoarea măsurată. Rezultatul corectat al măsurării reprezintă valoarea estimată a rezultatului măsurării. Se disting următoarele trei tipuri de erori: eroare grosolană, eroare sistematică și eroare aleatorie.

Eroare grosolană. Acest tip de eroare este produs de acele elemente ale șirului de date incompatibile cu celelalte elemente ale șirului (eșecuri de măsurare). Una din tehnicile folosite pentru detectarea valorilor aberante este reprezentată de testul Grubbs[6]. Dar, mai practic, o inspecție a șirului de date obținut prin măsurare indică datele care produc erori grosolane, de exemplu în șirul de valori de la Exemplul 2.1 măsurările cu numerele 12 și 22 dau valorile 119 mg/dL respectiv 69 mg/dL, care sunt mult diferite de celelalte valori, deci sunt eliminate ca fiind eronate. Evident, erorile grosolane se elimină de la început, recomandat chiar în momentul efectuării analizei, înainte de a prelucra șirul de date citite.

2.3.1 Eroarea sistematică

Eroarea sistematică, ϵ_s , se definește ca fiind diferența între media ce s-ar putea obține din rezultatele unui număr infinit de măsurări (teoretic, adică media teoretică μ), ale aceluiași măsurand, efectuate în condiții de repetabilitate și valoarea adevărată a măsurandului, a .

$$\epsilon_s = \bar{x} - a \quad (2.9-a)$$

Practic, în locul mediei teoretice, μ , se utilizează media experimentală, \bar{x} , relația (2.1), cum este reprezentat în Figura 2.4. Această diferență, calculată prin relația

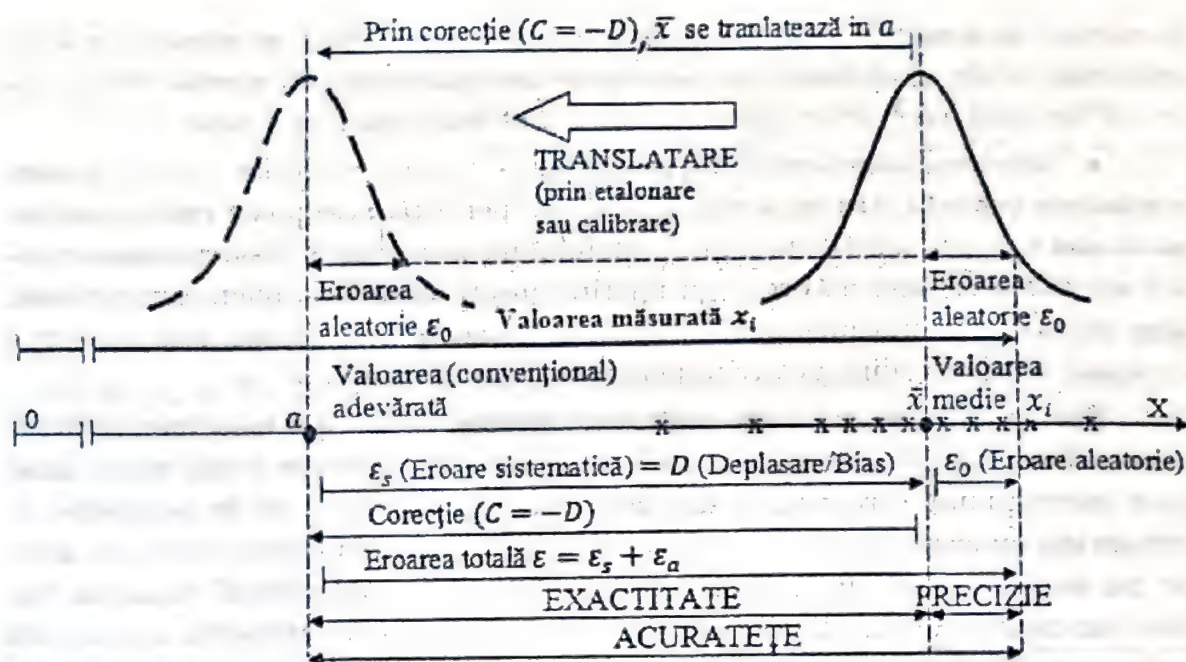


Figura 2.4 Reprezentare a componentelor sistematice și aleatorii în valoarea mărimii măsurate

(2.9-a), curent, este referită cu termenii de deplasare ($D = \epsilon_s$) sau bias. Deplasarea, D , se calculează, de regulă, sub o formă de mărime raportată (la valoarea adevărată) și se exprimă procentual

$$D\% = \frac{(\bar{x} - a)}{a} \cdot 100 \quad (2.9-b)$$

Caracteristica deplasării D (erorii sistematice) a unui proces de măsurare constă în faptul că: aceasta rămâne constantă și este independentă de numărul de măsurări efectuate, deci nu poate fi redusă prin mărirea numărului de măsurări efectuate asupra unui măsurand dacă se păstrează condițiile de măsurare. Uneori eroarea sistematică poate varia totuși într-un mod predictibil (de exemplu, poate depinde de nivelul de concentrație), dar are totdeauna în timpul măsurărilor același semn, pozitiv sau negativ; datorită erorii sistematice valorile măsurate ale analitului sunt fie mai mari fie mai mici decât valoarea reală.

• Cauzele care pot duce la apariția de erori sistematice pot fi:

- variația condițiilor exterioare (temperatură, presiune, umiditate, radiații);
- îmbătrânirea în timp a senzorilor, a materialelor de referință;
- neaplicarea unei corecții de nul (zero);
- inexactitatea în calibrarea multipunct a unui echipament și neliniaritatea;

- contaminarea probelor/interferențe;
- eroare de blanc, efectul(/diferența) de matrice;
- efecte computaționale (aproximare sau trunchiere a numerelor);
- efecte ale operatorului (paralaxă, etc.);
- etc.

• Identificarea erorilor sistematice poate fi realizată prin:

- utilizarea de etaloane sau materiale de referință
- determinarea valorii aceluiași măsurand prin metode diferite, fie în același laborator, fie în laboratoare diferite; sau prin schimbarea între laboratoare a etaloanelor sau a materialelor de referință pentru efectuarea unor măsurări independente este o practică recomandată; sau prin intercomparări.

• Deplasarea apare ca fiind generată: 1. datorită metodei de măsurare și/sau; 2. datorită laboratorului. Componenta generată de metodă este o consecință a erorilor inerente ale metodei, iar acestea apar în orice laborator care o utilizează. Componenta datorită laboratorului este generată de efecte sistematice specifice laboratorului și interpretării metodei în respectivul laborator, această componentă poate fi determinată doar prin studii de intercomparație.

Odată identificată și cuantificată deplasarea/bias-ul se poate decide cum se modifică rezultatul măsurării. Dacă deplasarea D este nesemnificativă în raport cu valoarea absolută a valorii adevărate a , sau are o valoare foarte mică în raport cu cerințele impuse măsurării atunci deplasarea se poate neglija pentru valoarea măsurată, adică pentru analiza respectivă se raportează valoarea măsurată. Dar dacă deplasarea este semnificativă și nu se poate neglija atunci valoarea deplasării respective trebuie eliminată din rezultatul măsurării prin aplicarea unei corecții $C = -D$ (se adună sau se scade D din valoarea măsurată după cum deplasarea are semnul negativ respectiv pozitiv) obținându-se astfel rezultatul corectat, x_c ($x_c = x + C = x - D$). Prin aplicarea unei corecții ($-D$) mediei experimentale, \bar{x} , acesteia i se atribuie valoarea (convențional) adevărată a , ceea ce este echivalent în Figura 2.4 cu translația lui \bar{x} din poziția în care este notată în poziția reprezentată de valoarea adevărată a măsurandului, ($a \leftarrow \bar{x}$).

Practic, eliminarea deplasării, din valoarea mărimii măsurate, se realizează prin etalonarea/calibrarea aparatului de măsurare.

Într-un laborator clinic, pentru realizarea testelor, unitățile de măsură specifice sunt impuse prin utilizarea materialelor de referință care au valori specificate, ce pot fi materiale de referință și materiale de referință certificate. Noțiunea de material de referință, RM (Reference Material) definește un material sau substanță ale cărei, una sau mai multe, valori ale proprietății (proprietăților) sale sunt suficiente de omogene și bine stabilite pentru a fi utilizate la calibrarea unui aparat de

măsurat, evaluarea unei metode de măsurare sau atribuirea de valori materialelor (sau substanțelor). O caracteristică foarte importantă pe care un RM trebuie să o îndeplinească este: matricea sa (compoziția și macrostructurarea, toate componentele dintr-o probă mai puțin analitul) să fie similară cu cea a probelor de analizat.

Un material de referință certificat, CRM, este însoțit de un certificat, pentru care una sau mai multe proprietăți sunt certificate printr-o procedură și care stabilește trasabilitatea sa la o realizare exactă a unității în care sunt exprimate valorile proprietății respective; fiecare valoare certificată este însoțită și de o valoare de incertitudine, determinată la un anumit nivel de încredere [7].

• **Trasabilitatea**, se definește ca fiind proprietatea unui rezultat al unei măsurări sau a valorii unui material standard prin care acestea pot fi raportate la o referință stabilă, de obicei standarde naționale sau internaționale, printr-un lanț neîntrerupt de comparații, fiecare nivel din acest lanț având incertitudinea specificată. **Trasabilitatea metrologică** realizează ca valorile măsurărilor într-un laborator să fie consistente -trasabile- la standardele naționale sau internaționale (etaloanele SI); prin aceasta se asigură ca toate laboratoarele să utilizeze aceeași scară de măsură, să fie conectate/ (racordate) la același "punct de referință", deci să se obțină o uniformitate a măsurărilor la nivel național/internațional. Trasabilitatea asigură pentru o aceeași analiză compatibilitatea în timp (efectuată în același laborator la diferite momente) și în spațiu (efectuată în laboratoare diferite). Valorile de referință acceptate pentru o metodă de analiză pot preveni: 1. de la materiale de referință sau; 2. pot fi furnizate de către o metodă de (analiză) referință. JCTLM (Joint Committee for Trasability in Laboratory Medicine), al cărui obiectiv este de a stabili o platformă mondială dedicată trasabilității în biologia medicală, a publicat, www.bipm.org, la 1 febr 2006, sub egida BIPM (Bureau Internationale des Poids et Mesures) o listă cu primele 133 denumiri de analiți, medicamente și toxine pentru care există deja materiale de referință și metode de referință trasabile la SI. Materialele de referință sunt instrumente importante pentru realizarea transferului acurateței măsurărilor între laboratoare. De exemplu, un etalon standard internațional poate fi un preparat de hormon agreeat internațional în raport cu care, printr-un lanț de comparații succesive între preparate intermediare, s-a stabilit valoarea și incertitudinea calibratorului din trusa de lucru cu care se calibrează analizorul din laborator.

Unitatea de etalonare utilizată pentru un proces de etalonare la un anumit nivel (verigă) a lanțului de trasabilitate este caracterizată (îi este asociată prin certificatul însoțitor) și o anumită incertitudine; în consecință rezultatul unei măsurări la acel nivel va avea o incertitudine asociată egală cu: 1. cea a etalonului utilizat; 2. plus incertitudinea asociată procesului de etalonare de la acel nivel. Cu cât nivelul din lanțul trasabilității este mai ridicat (mai aproape de etalonul SI sau național) cu atât incertitudinea asociată unității de etalonare este mai mică și invers la niveluri mai joase, în lanțul trasabilității, incertitudinea asociată unității de etalonare este mai mare; "tăria" lanțului de trasabilitate este caracterizată de

incertitudinile asociate fiecărui nivel. În urma etalonării unui analizor, pentru toate rezultatele măsurărilor obținute apoi pe acel analizor se va asocia o valoare de incertitudine care printre componentele de incertitudine conține și o componentă de incertitudine de etalonare. Valoarea acestei componente de incertitudine de etalonare a analizorului este determinată de incertitudinea materialului de etalonare utilizat (specificată în certificatul însoțitor).

Trasabilitatea și incertitudinea sunt două concepte interdependente și care stau la baza implementării calității într-un laborator medical.

- **Liniaritatea.** Aparatele de măsurat se realizează cu o caracteristică de transfer liniară (dependența liniară între mărimea de intrare, de exemplu concentrația analitului și mărimea de ieșire, de exemplu cifra afișată pe display sau tipărită), adică aceasta poate fi reprezentată grafic printr-o dreaptă pe întreg domeniu de măsurare al aparatului. Chiar dacă uneori, fizic, între mărimea de intrare și cea de ieșire nu este o dependență liniară, pe întreg domeniul de măsurare al aparatului (frecvent aceasta poate apare în zona concentrațiilor mici și mari, adică la extremitățile domeniului de măsurare), aparatul prin softul integrat compensează ("liniarizează") intervalele de neliniaritate, astfel că rezultă o caracteristică de transfer liniară, în special pe domeniul de referință. Procedura cea mai des utilizată pentru verificarea liniarității caracteristicii de transfer a unui aparat de măsurat se bazează pe determinarea dreptei/liniei de regresie aplicând calculul celor mai mici pătrate; în continuare se prezintă fundamentarea modului de determinare a dreptei de regresie.

Utilizând n eșantioane de materiale de referință, de concentrații diferite, care să acopere întreg domeniul de măsurare al aparatului sau cel puțin domeniul de referință, prin testarea acestora se obțin următoarele n perchi de valori intrare - ieșire: $(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_i, y_i), \dots, (x_n, y_n)$ care sunt plasate sub forma unor puncte într-un plan de coordonate xoy ca în Figura 2.5 (Coordonatele pe abscisă, x_i , corespund valorilor specificate pentru materiale de referință care se testează, iar coordonatele corespunzătoare pe ordonată y_i corespund valorilor măsurate cu aparatul pentru materialele de referință). Astfel de n eșantioane de date pot fi culese și printr-o comparare între o metodă de testat cu o metodă de comparat/referință; de data aceasta se pot măsura n probe de pacient, valorile obținute prin metoda de referință sunt introduse ca și coordonate pe abscisă, x_i , iar valorile obținute prin metoda de testat sunt introduse ca și coordonate corespunzătoare, y_i , pe ordonată. La o prima inspecție, vizual, se poate estima dacă aceste puncte sunt pe o dreaptă, dar o abordare mai exactă este trasarea unei drepte (de regresie) printre aceste puncte astfel încât această dreaptă să treacă prin cât mai multe puncte, dacă este posibil, sau să fie cât mai aproape de cât mai multe din aceste puncte. Realizarea unei apropieri, a dreptei de regresie, de cât mai multe puncte se poate exprima cantitativ astfel: suma pătratelor distanțelor (pe verticală), ϵ_i de la fiecare punct i ($= 1, 2, 3, \dots, n$) figurat în sistemul de coordonate xoy până la dreapta de regresie, să fie minimă, $(\sum (\epsilon_i)^2)$, "adică cele mai mici

pătrate"). Dreapta de regresie poate fi descrisă prin ecuația:

$$y = a \cdot x + b \quad (2.10)$$

în care:

- a - este panta dreptei, care fizic exprimă sensibilitatea procesului de măsurare ($a = \Delta y / \Delta x$), adică cu cât variază mărimea de ieșire (Δy) la o variație (Δx) a mărimii de intrare;
- b - este ordonata la origine, referită și ca "intercept" (intersecția axei ordonatei), adică valoarea mărimii de ieșire când mărimea de intrare este zero (fizic, în general, aceasta este ordonata punctului de calibrare cu blanc-ul).

Dreapta de regresie trece prin punctul de coordonate (\bar{x}, \bar{y}) , deci se poate scrie

$$\bar{y} = a \cdot \bar{x} + b \quad (2.11)$$

în care \bar{x} este media aritmetică a valorilor celor n coordonate de pe abscisă, iar \bar{y} este media aritmetică a valorilor celor n coordonate de pe ordonată, medii calculate cu relația (2.1).

Parametrii a și b ai ecuației dreptei se pot calcula, pe baza celor mai mici pătrate, cu următoarele relații:

$$a = \frac{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2} \quad b = \bar{y} - a \cdot \bar{x} \quad (2.12)$$

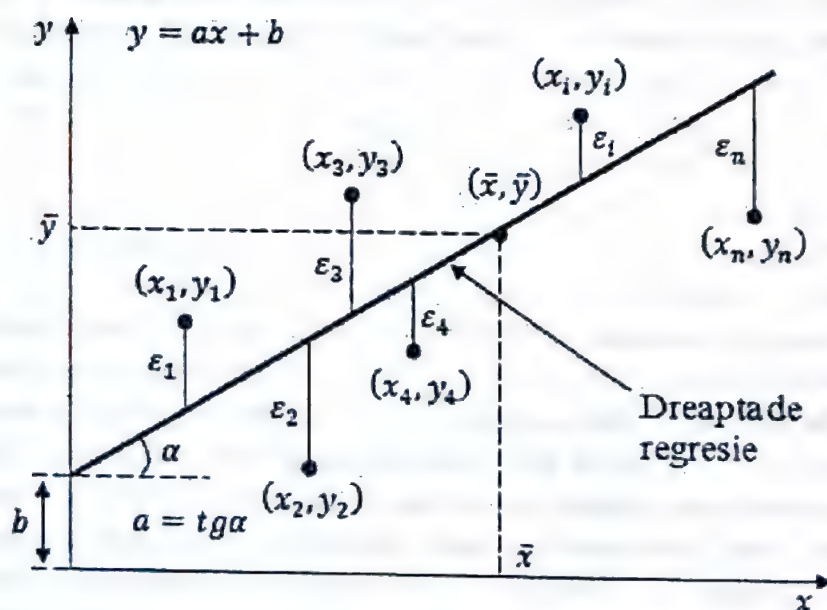


Figura 2.5 Determinarea caracteristicii de transfer ca o dreaptă de regresie prin metoda celor mai mici pătrate

Numărul de grade de libertate ν este egal cu numărul n de teste (de puncte figurate în planul xoy) minus numărul de parametri necesari pentru a determina ecuația caracteristicii de transfer. În cazul caracteristicii exprimată ca dreaptă, $y = a \cdot x + b$, sunt necesari doi parametri (a și b), deci numărul de grade de libertate este $\nu = n - 2$, iar dacă această caracteristică este o dreaptă, $y = a \cdot x$, care trece prin origine, ($b = 0$), atunci $\nu = n - 1$ deoarece este necesar să se determine doar un singur parametru, adică a . Mai concret, numărul de grade de libertate ν exprimă: care este numărul de date (puncte) experimentale rămase pentru a "potrivi" caracteristica de transfer, după ce s-a "consumat" un număr k de date (puncte) pentru a calcula cei k parametri necesari pentru determinarea curbei respective a caracteristicii de transfer, deci rămân $\nu = n - k$.

Cât de bine punctele, determinate prin testare, corespund pentru o reprezentare liniară a caracteristicii de transfer a aparatului se poate exprima cantitativ prin coeficientul de corelație r , care se calculează cu relația

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i - n \bar{x} \cdot \bar{y}}{\sqrt{\left(\sum_{i=1}^n x_i^2 - n \cdot \bar{x}^2\right) \left(\sum_{i=1}^n y_i^2 - n \cdot \bar{y}^2\right)}} \quad (2.13)$$

Calculând coeficientul de corelație r , liniaritatea caracteristicii de transfer a aparatului se poate aprecia după următoarele intervale de valori:

- $0,90 < r < 0,95$ o caracteristică destul de liniară
- $0,95 < r < 0,99$ o caracteristică liniară bună
- $r > 0,99$ o caracteristică liniară foarte bună

Pentru un analizor la care se dă curba (dreapta) de calibrare, determinând valorile y_i pentru toate valorile x_i ale materialelor de referință testate, prin metoda celor mai mici pătrate se poate stabili cât se abate dreapta de calibrare de la liniaritate calculând coeficientul r , cu relația (2.13).

O altă modalitate simplă pentru a constata, vizual, liniaritatea rezultă prin următoarea construcție grafică. Pentru fiecare perechea de coordonate (x_i, y_i) ale fiecărui punct de test i , se calculează raportul y_i/x_i . Apoi, într-un plan xoy se plasează punctele de coordonate $(x_i, y_i/x_i)$, aceste puncte trebuie să fie pe o dreaptă orizontală (eventual, o abatere de la orizontalitate la extremități, în zonele de concentrații mici și mari) dacă aparatul are o caracteristică de transfer liniară. Dacă domeniul x_i al concentrațiilor caracteristicii de transfer se întinde peste mai multe ordine de mărime, atunci pentru micșorarea lungimii axei x , aceasta se reprezintă la scară logaritmică, adică se va reprezenta punctele de coordonate $(\log x_i, y_i/x_i)$.

Dreapta de regresie este un instrument pentru determinarea valorii erorii sistematice pe întreg intervalul (de pe axa absciselor) pe care această dreaptă este

definită. De exemplu, eroarea sistematică, ϵ_s , la o concentrație de decizie medicală x_c se poate determina conform relației (2.10). Pentru valoarea x_c de pe dreapta de regresie

$$y_c = a \cdot x_c + b \quad (2.14-a)$$

se citește y_c , apoi prin efectuare diferenței între concentrația citită și valoarea x_c

$$\epsilon_s = y_c - x_c = a \cdot x_c + b - x_c = (a - 1) \cdot x_c + b \quad (2.14-b)$$

rezultă eroarea sistematică.

Exemplul 2.4 Prin comparare cu o metodă de referință a unei metode testate pentru analiză de colesterol s-a determinat pentru dreapta de regresie următoarea expresie $y = 1,03 \cdot x + 2$ (interceptul este de 2 mg/dL, iar panta $a = 1,03$). Să se calculeze eroarea sistematică, ϵ_s , a metodei testate la nivelul de decizie critică de $x_c = 200$ mg/dL.

Soluție: Pentru nivelul de decizie critică de 200 mg/dL, din caracteristica de regresie, se determină valoarea $y_c = 1,03 \cdot 200 + 2 = 208$ mg/dL, iar eroarea sistematică, calculată conform relației (2.14-b), este $\epsilon_s = 208 - 200 = 8$ mg/dL.

Dreapta de regresie realizează, pentru o metodă de măsurare, o caracteristică de transfer ideală când se suprapune peste bisectoarea întâia, o dreaptă ce pornește din origine ($b = 0$) cu panta unitară ($a = \tan 45^\circ = 1$), Figura 2.6-a; pentru o astfel de caracteristică nu există eroare sistematică (bias), valoarea măsurată este egală cu valoarea mărimii măsurate ($y_c = x_c$). În practică caracteristicile de transfer nu totdeauna realizează relația $y_c = x_c$, valoarea măsurată y_c poate fi diferită de valoarea specificată a mărimii măsurate x_c , diferența dintre acestea, relația (2.14-b), fiind eroarea sistematică (deplasarea/biasul). Eroarea sistematică poate fi constantă pentru toate probele măsurate, poate să se modifice proporțional cu creșterea valorii concentrației analitului în probele măsurate sau poate să conțină ambele, atât componenta constantă cât și cea proporțională.

Eroarea sistematică constantă, Figura 2.6-b poate fi provocată de interferențe în probele analizate, ceea ce duce la o creștere sau descreștere constantă a valorii măsurate a analitului. Frecvent, astfel de interferențe apar de exemplu, în spitalele oncologice unde pacienții sunt tratați cu substanțe care rămân în organism sau în centrele de transplant când pacienții sunt tratați cu medicamente antirejec-tante; de asemenea, probleme de interferențe pot fi cauzate de hemoliză, lipemie sau concentrație ridicată de bilirubin. O modalitate de a determina componenta de eroare sistematică constantă, pentru o metodă de măsurare, poate fi următoarea. Într-o probă de test se adaugă o cantitate din substanța suspectă de interferență (interferent) cu analitul de interes. O a doua probă alicotă se diluează cu un solvent în cantitate egală cu cea a interferentului, apoi fiecare probă este analizată de mai multe ori prin metoda de testat. Diferența între media măsurilor pe proba tratată cu interferent și media măsurărilor pe proba diluată exprimă o estimare a erorii sistematice constante.

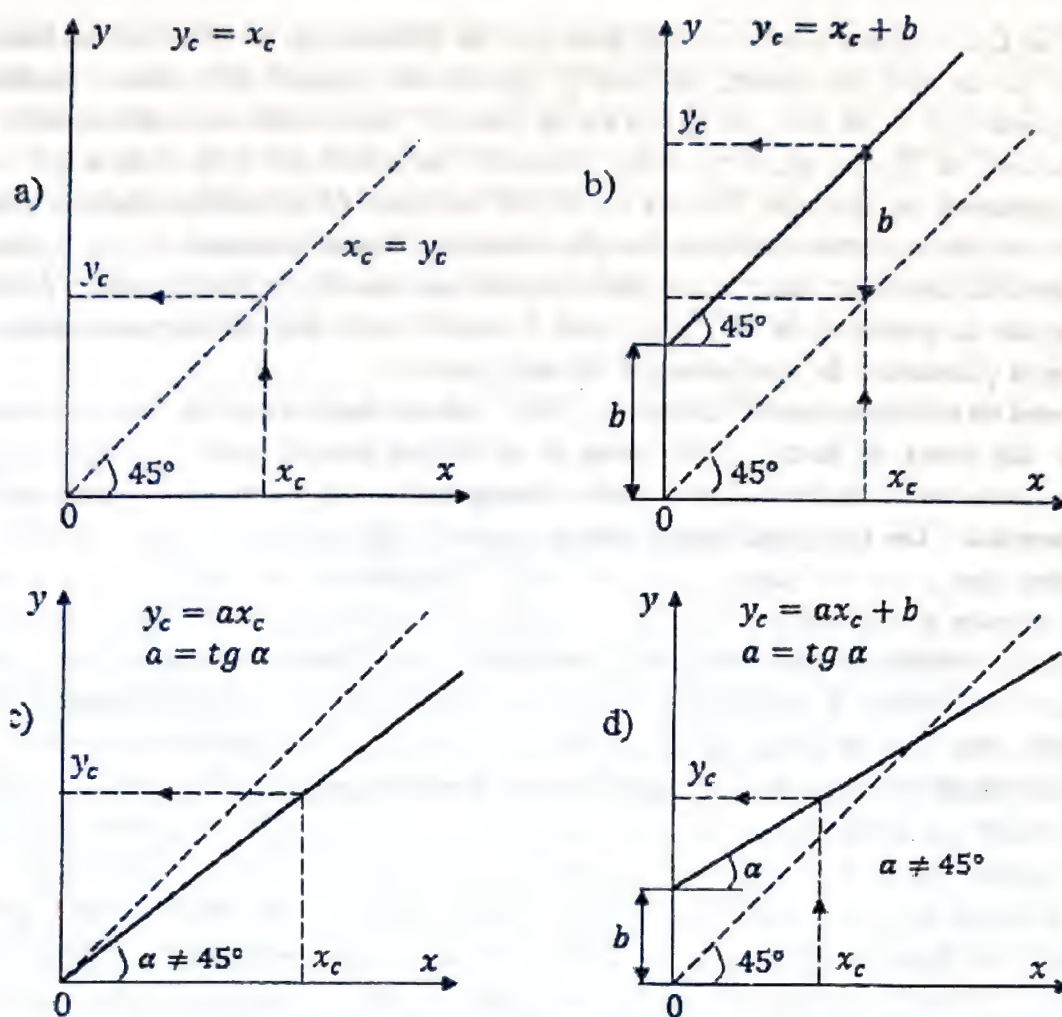


Figura 2.6 Dreapta de regresie: a) fără eroare sistematică; b) cu eroare sistematică constantă c) cu eroare sistematică proporțională; d) cu eroare sistematică constantă și proporțională

Eroarea sistematică proporțională (cu concentrația), Figura 2.6-c este adesea cauzată de către o substanță prezentă în matricea probei de analizat care reacționează cu analitul de interes, prin urmare este activată de reactiv. Eroarea proporțională cauzată poate fi estimată printr-un test de recuperare (recovery) în modalitatea următoare. Într-o probă de paciant se introduce o cantitate din analitul de interes (cel mai des se adaugă un standard sau un calibrator corespunzător analitului de interes). Într-o a doua probă alicotă se adaugă un diluant sau solvent în aceeași cantitate, egală cu cea a analitului în prima probă; se măsoară ambele probe de câteva ori și se calculează media pentru fiecare probă. Regăsirea procentuală ($R\%$) este egală cu diferența mediilor celor doua probe împărțită la cantitatea adăugată, totul înmulțit cu 100. Eroarea sistematică proporțională este egală cu diferența $100\% - R\%$.

Caracteristica de transfer a unei metode afectate atât de eroare sistematică proporțională cât și de eroare sistematică constantă este prezentată în Figura 2.6-d.

• Calibrarea este procesul prin care se testează și se ajustează un instrument, un kit sau un sistem, în condiții specificate, pentru a realiza o anumită corespondență între valorile măsurate și valorile cunoscute corespunzătoare ale măsurandului [7]. (ideal, se realizează dreptele punctate $y = x$ în Figura 2.6.)

Prin procesul de calibrare rezultă curba de calibrare (dependența dintre valorile cunoscute ale măsurandului și indicațiile corespunzătoare furnizate de instrument), ce prezintă încredere doar când este ridicată în condițiile specificate. Valorile cunoscute în procesul de calibrare sunt furnizate prin utilizarea materialelor de referință (furnizate de producătorul de echipament).

Procesul de calibrare constă din testare materialelor de referință de diferite concentrații, din trusa de lucru, astfel încât să se obțină puncte pentru curba de calibrare (caracteristica de transfer) care să acopere întreg domeniul de măsurare al analizorului. De fapt, calibrarea este o operație de etalonare, dar efectuată cu etalonul din trusa de lucru - calibratorul. Calibratorul ar trebui să fie însoțit de o valoare a incertitudinii și să se specifice la ce etalon de nivel superior sau metodă de referință este trasabil (cu siguranță, în viitor, în trusa de lucru astfel de calibratoare vor fi disponibile). Dacă materialul de referință produce efect de matrice, vezi Figura 2.6-c, atunci, în locul acestuia, se vor utiliza probe fortificate cu concentrații crescătoare de analit. Există multe recomandări asupra numărului de niveluri de concentrații diferite, care să fie testate, pentru calibrare, numere care variază de la recomandare la recomandare, dar o valoare minimală este de șase niveluri de concentrație plus blanc (iar pe fiecare nivel se realizează câteva măsurări și apoi se efectuează media acestora). Dar, dacă pentru domeniul de măsurare caracteristica de transfer este liniară, atunci calibrarea în două puncte este suficientă pentru determinarea pantei drepte de calibrare.

Calibrarea în două puncte este practica comună pentru analizoarele multi-test automate actuale; tipic, cu un calibrator (blancul) se fixează punctul de zero (de blanc) și cu alt calibrator se fixează "set-point". *Curba de calibrare se consideră, o presupunere general acceptată și realizată, că este o dreaptă ce unește punctul de zero de calibrare cu punctul set-point de calibrare și se continuă și după acesta până la limita de liniaritate maximă L_{LM} (care de regulă este egală cu limita superioară, L_S , a domeniului de măsurare, $L_{LM} = L_S$).*

Pe analizoarele actuale procesul de calibrare (în două puncte sau multi-punct) se realizează automat (generându-se grafic și dreapta de calibrare) iar, în urma acestuia, este compensată automat deplasarea/bias-ul, D ; prin acest proces de calibrare automată poziția pentru valoarea medie \bar{x} este translatată în poziția pentru valoarea adevărată a (teoretic, deoarece practic este foarte dificil realizarea unei corecții perfecte), din Figura 2.4. Neaplicarea unei corecții perfecte este afectată de o anumită incertitudine care trebuie specificată (asociată) în raportarea rezultatului măsurării (vezi secțiunea 3.4).

Operația de calibrare, tipic, se realizează săptămânal sau lunar, cu calibratori, iar controlul aparatului, cu seruri de control, la fiecare șase ore. Informația

obținută cu serurile de control este înscrisă într-o diagrama de control a aparatului care se stochează în memoria acestuia și constituie un document al controlului de calitate, QC (Quality Control). Dacă măsurarea pe serul de control indică o modificare, prin care valoarea măsurată se situează în afara unui interval acceptat, atunci se recomandă repetarea testului sau/și recalibrarea.

Exemplul 2.5 Ecuatia caracteristicii de transfer a unui autoanalizor pentru măsurarea concentrație de glucoză este:

$$C_x = C_0 + \frac{A_x - A_0}{A_{cal} - A_0} \cdot (C_{cal} - C_0) \quad (2.15)$$

în care:

C_x - Concentrația totală de glucoză în proba de testat [mmol/L];

C_{cal} - Concentrația totală de glucoză în calibrator [mmol/L] (set-point);

C_0 - Concentrația totală de glucoză în soluția (blanc) utilizată pentru calibrarea punctului de zero (uzual pentru acest al doilea calibrator este utilizată apa distilată/deionizată și atunci ($C_0 = 0$ [mmol/L]));

A_0 - Semnalul de absorbantă obținut pentru blanc [AU - unități de absorbantă];

A_{cal} - Semnalul de absorbantă obținut pentru calibrator [AU];

A_x - Semnalul de absorbantă obținut pentru soluția de probă [AU];

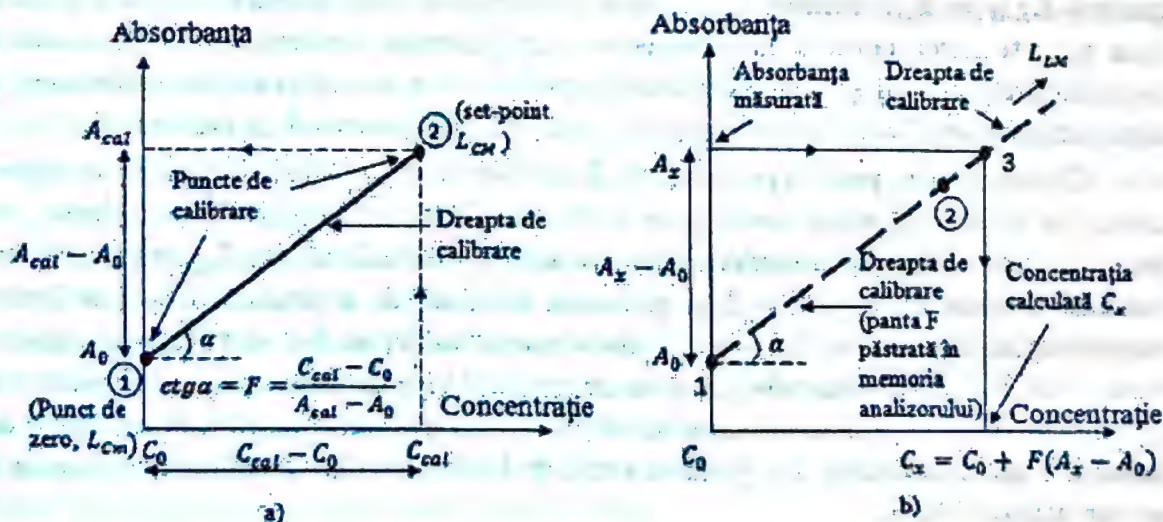


Figura 2.7 Procesul de calibrare și măsurare: a) calibrare - determinarea dreptei de calibrare prin două puncte (panta F se stochează în memorie); b) măsurare - determinarea unei concentrații C_x pe baza pantei F stocate în memoria aparatului

Procesul de calibrare este prezentat în Figura 2.7-a, calibrarea se realizează în două puncte (① - punctul de zero și ② - set-point). Coordonatele celor două puncte de calibrare se determină prin măsurarea blancului (A_0, C_0) și prin măsurarea calibratorului

(A_{cal}, C_{cal}). Pe baza acestor informații obținute autoanalizorul calculează valoarea pantei F a dreptei de calibrare (de fapt, este inversul pantei, $\cotg \alpha$) și o stochează în memorie

$$F = \frac{C_{cal} - C_0}{A_{cal} - A_0} \quad (2.16)$$

Apoi, în procesul de măsurare, Figura 2.7-b, pentru proba supusă măsurării, se determină absorbția probei corectată cu blancul ($A_x - A_0$), pe care calculatorul o înmulțește cu factorul F (stocat în memoria calculatorului) rezultând valoarea concentrației C_x raportată la blanc C_0 , $(C_x - C_0) = F \cdot (A_x - A_0)$, relație din care se calculează C_x

$$C_x = C_0 + F \cdot (A_x - A_0) \quad (2.17)$$

• Domeniul de măsurare, D_M , (uneori referit și ca domeniu analitic) este definit ca intervalul în care *metoda prezintă o caracteristică liniară de transfer*, iar rezultatele obținute pot fi raportate. Domeniul de măsurare se specifică, în documentația tehnică de către producătorul analizorului între o limită inferioară, L_I și o limită superioară, L_S , $D_M = [L_I, L_S]$.

Când domeniul de măsurare rezultă din documentația tehnică este critic să se verifice doar cele două limite specificate, mai ales pentru calibrarea în două puncte când se consideră că dreapta de calibrare pornește din zero point trece prin set-point și se continuă după acesta până la limita de liniaritate maximă, L_{LM} , în general $L_{LM} = L_S$. Minim, verificarea domeniului de măsurare se poate realiza doar prin testarea corectitudinii măsurării în punctele (inferior și superior, adică se verifică valorile L_I și L_S) specificate de producător, considerând că între acestea caracteristica analizorului este liniară (realizată prin procesul de calibrare).

De asemenea, pentru procesul de fixare/verificare a valorilor limită ale domeniului de măsurare, când acestea nu sunt specificate în documentația tehnică, se poate aborda luând în considerare limita minimă de măsurare, L_Q (ca limită inferioară a domeniului, $L_I = L_Q$) și limita maximă de măsurare, L_M (ca limită superioară a domeniului, $L_S = L_M$), dacă aceste valori au fost determinate experimental. Pentru unele metode, care au un interval larg de măsurare, ca de exemplu glucoză, creatinină, iar acest interval depășește limita superioară a domeniului de măsurare al analizorului, L_S , pentru astfel de teste care depășesc limita superioară se vor utiliza diluții.

Domeniul de măsurare se poate determina experimental, proces care este identic cu obținerea dreptei de regresie, Figura 2.5; numărul minim de niveluri de test recomandate fiind 5 [22]. Se obțin, în cantitate suficientă, două niveluri de material de test: unul de concentrație joasă, C_L , aproape de nivelul zero de concentrație sau de limita minimă de măsurare, iar celălalt de concentrație ridicată, C_H , egal sau puțin mai mare decât limita maximă a domeniului de măsurare. Cele cinci niveluri de test C_i ($i = 1, 2, 3, 4, 5$) preparate pentru verificarea domeniului de măsurare vor fi: $C_1 = C_L$; $C_2 = 75\% C_L + 25\% C_H$; $C_3 = 50\% C_L + 50\% C_H$;

$C_4 = 25\% C_L + 75\% C_H$; $C_5 = C_H$. Pentru fiecare nivel se fac trei determinări, apoi se face media pe acel nivel. Se trasează punctele într-un sistem de axe, pe axa y valorile măsurate iar pe x valorile de concentrații preparate. Manual se trasează dreapta de transfer care să treacă prin cât mai multe puncte, sau cât mai aproape de cele cinci puncte și apoi se estimează intervalul pentru domeniul de măsurare al analizorului (între ce limită inferioară, L_I și ce limită superioară, L_S , se poate considera că prezintă o caracteristică de transfer liniară).

• **Exactitatea/Inexactitatea** (trueness - engl., justess - fr.) - este o noțiune (de caracterizare) calitativă a procesului de măsurare și reflectă gradul de concordanță între valoarea medie obținută dintr-un set mare de rezultate, în condiții de repetabilitate, și o valoare de referință, Figura 2.4, (care se presupune a fi echivalentă cu "valoarea convențională adevărată") [3]. În absența unor etalone primare și/sau de materiale de referință certificate (CRM) pentru cea mai mare parte dintre analiți, noțiunea de exactitate în biologia medicală prezintă o abordare dificilă, destul de relativă. Laboratorul va trebui să utilizeze, pentru a aborda exactitatea, "calibranți" de la furnizori, date rezultate în urma comparării cu o metodă de referință, date de la controlul extern de calitate sau date obținute de la controlul intern de calitate, cu materiale de control produse doar de fabricantul aparatului (dar aceste date numai după o confruntare/comparare externă).

O exprimare cantitativă, pentru noțiunea de exactitate, se obține prin valoarea calculată pentru deplasare/bias cu relația (2.9-a). Dar, conform definiției de mai sus pentru exactitate, atunci când gradul de concordanță între valoarea medie și o valoare de referință este mare rezultă o exactitate bună pentru o metodă, ceea ce se reflectă printr-o valoare mică sau neglijabilă pentru bias (prin care se poate exprima cantitativ noțiunea de exactitate), și invers când concordanța este mică rezultă o exactitate redusă care se exprimă printr-un bias de valoare ridicată. Se poate introduce noțiunea opusă - **inexactitatea** - care, evident, este însemnată când exactitatea este redusă și inexactitatea este redusă atunci când exactitatea este însemnată. Utilizarea noțiunii de inexactitate pare mai intuitivă decât exactitatea, deoarece atunci când exactitatea este redusă inexactitatea este însemnată și se exprimă printr-un bias de valoare mare, iar când exactitatea este însemnată inexactitatea este redusă și se exprimă printr-un bias de valoare mică.

Inexactitatea exprimă, în fond, efectele sistematice, deci cauzele de care depinde sunt cele enumerate anterior pentru erorile sistematice. Inexactitatea poate fi evaluată prin următoarele modalități:

- prin compararea (diferența) între valoarea medie obținută prin măsurarea repetată a unui material de referință și valoarea de referință specificată (valoarea adevărată/țintă);
- prin compararea valorii medii asupra probelor de pacienți cu o valoare medie obținută asupra acelorași probe prin măsurări dar printr-o metodă de referință;

- prin compararea valorii medii obținute cu o valoare furnizată de producătorul analizorului;
- prin intercomparări: compararea valorii medii obținute de laborator cu o valoare medie obținută de un grup de laboratoare care utilizează aceeași metodă (peer group) sau cu o valoare medie generată pentru un grup de laboratoare cu metode diferite.

Într-o aplicație de intercomparare [7], valoarea deplasării metodei analitice a laboratorului participant este estimată în raport cu valoarea X atribuită pentru concentrația variabilei din probă (probă care a fost distribuită de coordonatorul intercomparației tuturor participanților grupului). Valoarea atribuită X , stabilită de coordonatorul aplicației de intercomparație, poate fi o valoare independentă de rezultatele comparării interlaboratoare (material de referință, metodă de referință), poate fi o estimare a valorii adevărate (o medie) efectuată de unele laboratoare expert sau poate fi o valoare de consens după evaluarea rezultatelor returnate de participanți.

Valoarea deplasării se calculează ca diferența, $\bar{x} - X$, dintre valoarea medie, \bar{x} , raportată de laboratorul participant și valoarea X stabilită de coordonatorul aplicației. Dacă se stabilește o abatere standard $s_{intercomp}$ pentru distribuția datelor utilizate în aplicația de intercomparație, atunci se poate calcula indicatorul denumit scorul Z

$$Z = \frac{\bar{x} - X}{s_{intercomp}} \quad (2.18)$$

care exprimă numărul de abateri standard $s_{intercomp}$ ce separă rezultatul laboratorului (\bar{x}) de valoarea medie (X) a grupului de comparație. O valoare aproape de zero pentru Z arată că deplasarea laboratorului este mică în raport cu valoarea stabilită pentru grup, iar o valoare mai mare de doi exprimă faptul că există doar o probabilitate de 5% (vezi Tabelul 1.2) ca laboratorul să producă date exacte.

2.3.2 Eroarea aleatorie

- **Eroarea aleatorie**, ϵ_a - diferența între rezultatul x al unei măsurări și media ce s-ar obține din rezultatele unui număr infinit de măsurări (adică media teoretică, μ) ale aceluiași măsurand, măsurări efectuate în condiții de repetabilitate.

Dar, practic, în locul mediei teoretice se va utiliza media aritmetică experimentală, \bar{x} , relația (2.1), atunci pentru eroarea aleatorie se va determina doar o estimatie a acesteia, $\epsilon_a = x - \bar{x}$. Estimația unei erori aleatorii este acea valoare care rezultă în urma eliminării din eroarea totală ϵ , relația (2.8), a erorii sistematice, ϵ_s , adică $\epsilon_a = \epsilon - \epsilon_s$, deci eroarea aleatorie rămâne în valoarea mărimii măsurate după aplicarea corecției sistematice, $C = -\epsilon_s (= -D)$. Din Figura 2.4 se poate deduce că eroarea aleatorie în cazul măsurării repetate a aceluiași măsurand poate fi atât

pozitivă cât și negativă, spre deosebire de eroarea sistematică care poate fi numai pozitivă sau numai negativă. Eroarea aleatorie, reflectă dispersia/variabilitatea valorilor măsurate în jurul valorii \bar{x} , poate fi caracterizată prin abaterea standard experimentală, relația (2.2) sau abaterea standard relativă, RSD ori Coeficientul de Variație, CV, relațiile (2.3) și (2.4).

Eroarea aleatorie nu poate fi compensată ! Este inerentă oricărui proces de măsurare.

- Eroarea aleatorie apare din cauza unei multitudini de factori a căror influență individuală este neglijabilă, de foarte multe ori necunoscuți și pentru care nu există posibilitatea depistării și înlăturării acestor influențe (la nivelul tehnicii și preciziei de măsurare); eroarea aleatorie poate fi considerată ca rezultanta tuturor efectelor unor astfel de factori. Astfel de factori sunt prezenți în funcționarea unei metode ca de exemplu: pipetarea probelor, condițiile de reacție care depind de temperatură, de mixare, de temperatură, de umiditate, de operator etc. În sistemele neautomatizate variațiile în tehnica individuală a operatorilor pot fi o contribuție importantă în variabilitatea/dispersia măsurărilor. Pentru măsurările automate lipsa de uniformitate și instabilitate a aparatului precum și condițiile de reacție pot cauza variații pozitive sau negative în rezultatul măsurărilor. Erorile aleatorii sunt inevitabile, ele nu pot fi înlăturate din valorile estimate ale măsurărilor. Dar, cu ajutorul teoriei probabilităților, se poate lua în considerare în ce măsură erorile aleatorii influențează estimațiile pentru valorile mărimilor măsurate (și incertitudinea asociată estimației respective).

- **Precizia/Imprecizia** (engl. - precision, fr. - fidélité) - la fel ca și noțiunea de exactitate, pentru efectele sistematice, este o noțiune (de caracterizare) calitativă, dar pentru exprimarea efectelor aleatorii. Noțiunea de precizie exprimă gradul de concordanță între rezultatele independente/individuale, ale unei serii de măsurări, efectuate în condiții prevăzute. Specificația - condiții prevăzute - înseamnă că trebuie să fie statuat exact modul în care se efectuează măsurările. În funcție de aceste condiții de măsurare exprimarea preciziei se prezintă sub următoarele trei forme:

1. **Repetabilitatea** - exprimă precizia unui set de măsurări efectuate cu aceeași metodă pe elemente de testare identice, în același laborator, utilizând același echipament, același lot de reactivi, același operator, iar măsurările se realizează într-o perioadă scurtă de timp. Evident, din enumerarea acestor condiții de măsurare prevăzute, rezultă că repetabilitatea reflectă dispersia procesului de măsurare, deci poate fi exprimată prin abaterea standard experimentală SD a procesului de măsurare, dar mai potrivită este abaterea standard relativă, RSD, relația (2.3) sau coeficientul de variație CV, relația (2.4). În practică, se recomandă ca repetabilitatea să fie determinată pentru diferite niveluri de concentrații. Numărul de măsurări recomandat pentru fiecare nivel este cuprins între 10 și 30 (poate fi chiar 5 pentru determinările manuale) în funcție de costul reactivilor.

Se poate introduce un criteriu pentru aprecierea gradului de repetabilitate,

acesta fiind limita de repetabilitate. **Limita de repetabilitate**, notată cu r , este o valoare care se calculează în funcție de abaterea standard experimentală, $s(x)$ și de variabila t_{∞} , din Tabelul 3.4, cu următoarea relație

$$r = t_{\infty} \cdot \sqrt{2} \cdot s(x) \quad (2.19)$$

Interpretarea noțiunii de limită de repetabilitate este următoarea: valoarea sub care este de așteptat ca diferența absolută dintre două rezultate a două măsurări, ale aceluiași set de măsurări, să se situeze cu o probabilitate p . De exemplu, dacă probabilitatea (nivelul de încredere) se consideră 95% atunci din TABELUL 3.4, pentru $\nu = \infty$ rezultă valoarea lui $t_{\infty} = 1,96$, atunci cu relația anterioară se calculează limita de repetabilitate, a procesului de măsurare, cu un grad de încredere de 95%, în funcție de abaterea standard experimentală $s(x)$, ca fiind egală cu $r = \sqrt{2} \cdot 1,96 \cdot s(x) = 2,77 \cdot s(x)$. Utilizând această noțiune de calcul, limita de repetabilitate, se poate decide dacă două analize efectuate în același laborator, la un anumit interval de timp diferă sau nu din punct de vedere al procesului de măsurare; ca aceste două măsurări să fie diferite, deci parametrul biologic analizat să se fi modificat, trebuie ca valorile celor două măsurări să difere cu cel puțin limita de repetabilitate. Pentru acest caz de comparare între analize, în valoarea limitei de repetabilitate, s-a considerat doar variabilitatea procesului de măsurare (variabilitatea analitică), pentru cazul când se ia în considerare și variabilitatea biologică (inter-individual) vezi Exemplul 3.14-b și 3.15.

2. Reproducibilitatea internă (Precizia intermediară, intra-analiză sau intra-laborator) - exprimă dispersia/variabilitatea pe termen lung a procesului de măsurare în cadrul laboratorului pentru elemente de testare identice cu: loturi diferite de reactivi, operatori diferiți, calibrări cu calibratori diferiți. (Pentru analizoarele complet automate operatorul sau operatorii nu pot influența variabilitatea testelor, deci factorul operator se exclude). Reproducibilitatea internă, față de repetabilitate, introduce în distribuția rezultatelor o influență suplimentară datorată condițiilor modificate. Totdeauna în raportarea reproductibilității interne trebuie specificate care din condiții sunt modificate față de un test de repetabilitate, în realitate reproductibilitatea internă reflectă dispersia/variabilitatea rezultatelor în activitatea de zi-de-zi din laborator.

Practic, pentru metode noi introduse în activitatea laboratorului, încercarea pentru reproductibilitatea internă se realizează, pentru diferite concentrații, sub forma unei serii de 20 - 30 măsurări, una sau două măsurări pe zi, repetate timp de minim 20 zile, pe eșantioane de materiale utilizate pentru controlul de calitate cotidian (ser de control), dar să cuprindă în acest interval două sau mai multe schimbări de eșantioane de reactivi și de calibratori. Din aceste date se calculează valoare medie \bar{x} , abaterea standard experimentală SD și coeficientul de variație CV. În general reproductibilitatea internă a laboratorului se exprimă prin valoarea CV obținută.

Pentru procesele de rutină se recomandă ca reproductibilitatea internă a

laboratorului, să se calculeze ca un parametru caracteristic, SD sau CV, pe baza datelor înregistrate în baza de date rezultate din controlul intern de calitate (QC) realizat pe o perioadă de cel puțin șase luni utilizând același material de control. Abordând în acest mod se cumulează date care reflectă contribuția modificării unor factori cum ar fi: mentenanță echipamentului, calibrări, schimbarea loturilor de reactivi, operatori, condițiile de mediu etc; ori, neabordând în acest mod, efectul modificării acestor factori nu apare în cuantificarea prin repetabilitate. Pentru evaluarea componentei de incertitudine datorată preciziei de măsurare, vezi secțiunile 3.3 și 3.4, se recomandă folosirea cuantificării preciziei obținute în acest mod, din datele stocate prin controlul intern de calitate.

Precizia metodei analitice, parametru al dispersiei valorilor măsurărilor, se exprimă prin intermediul abaterii standard experimentală sau prin abaterea standard relativă. Atât repetabilitatea cât și reproductibilitatea pot fi, în general, dependente de concentrația de analit, deci trebuie să fie determinate pentru un număr de niveluri de concentrații, dar această dependență între precizie și concentrație trebuie să fie determinantă numai în caz că este relevantă. Mai potrivit decât abaterea standard experimentală, pentru o exprimare cantitativă a preciziei, este deviația standard relativă (sub formă de CV), deoarece este o valoare mult mai constantă pe o plajă de variație a concentrației.

Matricea (celelalte componente prezente în probă pe lângă analitul de interes) pentru probele biologice de analizat în laborator, de exemplu pentru glucoză, poate fi: sânge integral, ser, plasmă, urină sau lichid spinal.

Pentru testarea preciziei unei metode analitice este necesar să se utilizeze un material de test care să aibă matricea cât mai apropiată de cea a probei biologice. Astfel de materiale de test pot fi: soluții standard, soluții/seruri de control, pool-uri de seruri de pacient sau probe primare de pacient. Numărul de materiale de test utilizat pentru verificarea unei metode depinde de concentrațiile care sunt critice în decizia medicală pentru acel tip de analiză medicală. În general, sunt selectate 2-3 materiale de test care au concentrații de analit la nivelurile importante pentru decizie medicală. Un nivel de decizie medicală reprezintă o concentrație la care interpretarea medicală a rezultatului testului ar putea fi critică. De exemplu, pentru colesterol niveluri de decizie medicală sunt: 200 mg/dL și 240 mg/dL [21]. În schimb, glucoza este interpretată tipic la diferite niveluri de decizie medicală cum ar fi: 50 mg/dL pentru hipoglicemie; 120 mg/dL pentru un test rapid; 160 mg/dL pentru un test de toleranță la glucoză; 300 mg/dL pentru monitorizarea pacienților diabetici. Pentru majoritatea analiților de interes într-un laborator medical, recomandări pentru aceste niveluri de decizie se găsesc la <http://www.westgard.com/decision.htm>.

La fel, ca la noțiunea de exactitate unde pentru evaluarea erorii sistematice s-a introdus noțiunea de inexactitate care se exprimă prin valoarea deplasării, și pentru noțiunea de precizie s-a introdus noțiunea de imprecizie. Este mai intuitiv utilizarea noțiunii de imprecizie care se exprimă prin valoarea deviației standard experimentală, SD. Aceasta pentru că atunci când dispersia este ridicată, SD are

valoare mare deci imprecizia este mare, iar când dispersia este redusă, SD are valoare mică deci imprecizie mică, ceea ce nu este cazul când se utilizează noțiunea de precizie; la o precizie ridicată corespunde SD de valoare mică, iar la o precizie redusă corespunde o valoare mare pentru SD.

Repetabilitatea și reproductibilitatea internă sunt două reprezentări extreme ale preciziei în cadrul unui laborator; apropierea cât mai strânsă între cele două valori, ale repetabilității și reproductibilității interne, reflectă o robustețe bună a metodei analitice. Diferența dintre reproductibilitate față de repetabilitate se explică prin faptul că reproductibilitatea este o repetabilitate în timp, deci cu modificarea în timp a unor parametri ai procesului de măsurare.

3. Reproductibilitatea - exprimă precizia în condiții de reproductibilitate, adică în condiții în care rezultatele testului se obțin: cu aceeași metodă, pe elemente identice de testat, în laboratoare diferite, cu loturi diferite de reactivi, pe echipamente diferite, cu operatori diferiți (acestea fiind condiții prevăzute pentru studii comparative între laboratoare, deci formal se exclud variațiile în funcție de timp). Reproductibilitatea trebuie măsurată pe baza dispersiei rezultatelor obținute în aceste condiții de intercomparabilitate. Abaterea standard de reproductibilitate, S_R , se determină din deviațiile standard pentru fiecare nivel de concentrație, din măsurările efectuate pe materialele de referință de operatori diferiți, pe diferite echipamente, de la diferite laboratoare participante în studiul comparativ. Scopul determinării reproductibilității este de a verifica dacă o metodă va furniza aceleași rezultate în laboratoare diferite, presupunând că metoda va fi utilizată în diferite laboratoare.

Modul cum în rezultatele măsurărilor, ale unui proces de măsurare, se reflectă parametri de exactitate și precizie este reprezentat grafic în Figura 2.8. În această figură, pentru o metodă de măsurare, sunt reprezentate trei regiuni (posibile) de funcționare corespunzătoare celor trei intervale ①, ② și ③, reprezentate corelat în (domeniul) timp și în domeniul de frecvență (densitate de probabilitate). Pentru intervalul ① măsurările sunt reprezentate echilibrat în jurul valorii medii \bar{x} , ceea ce se reflectă în domeniul frecvență printr-o curbă de distribuție de probabilitate centrată în jurul valorii medii. În intervalul ②, metoda de măsurare este afectată în funcționare de o eroare sistematică ceea ce se reflectă printr-o deplasare (bias) atât pentru reprezentarea în timp cât și pentru reprezentarea în frecvență. Intervalul ③ corespunde unui proces de măsurare cu o dispersie foarte pronunțată.

2.3.3 Acuratețea

Acuratețea (engl - accuracy, fr - exactitude), care este o noțiune calitativă, ca exactitatea și precizia, exprimă gradul de concordanță între rezultatul x al unei măsurări individuale și valoarea (convențional) adevărată, a . Rezultă că pentru noțiunea de acuratețe se poate utiliza exprimarea dată prin relația (2.8),

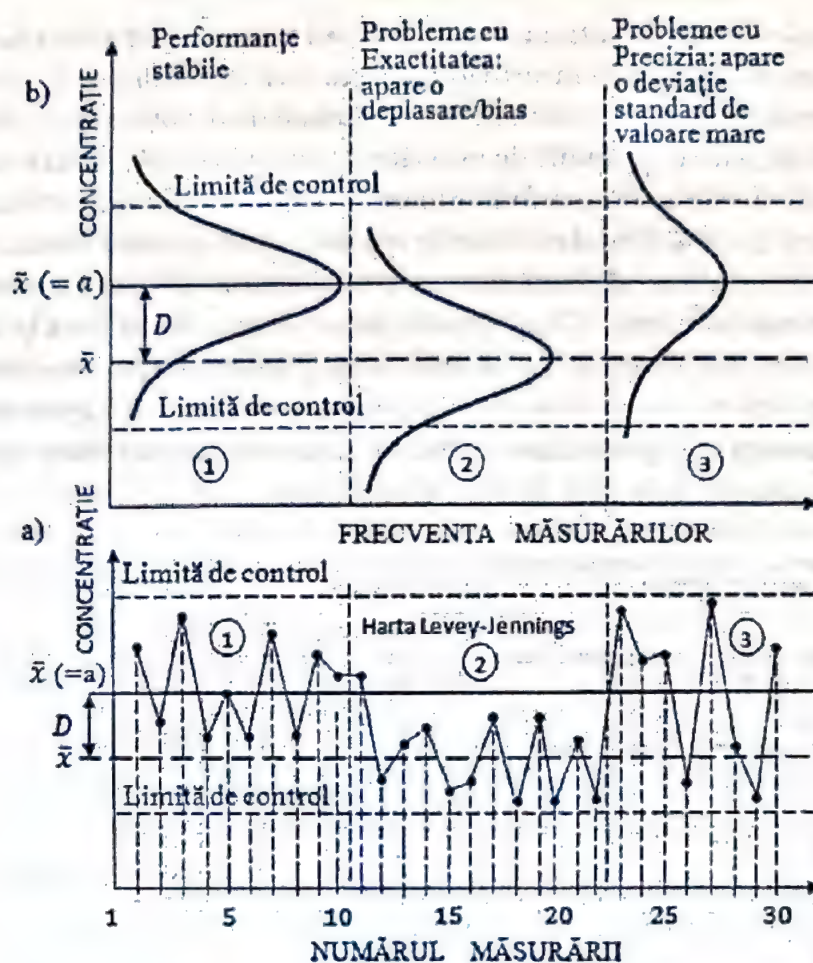


Figura 2.8 Corespondența între reprezentările în domeniul timp (a) și domeniul frecvență (b) pentru măsurările efectuate pe o metodă analitică pentru trei cazuri de funcționare

$\epsilon = x - a$, adică acuratețea poate fi exprimată cantitativ prin eroarea totală ϵ , care se compune din eroarea sistematică și eroarea aleatorie, $\epsilon = \epsilon_s + \epsilon_a$, deci este determinată atât de efectele sistematice cât și de efectele aleatorii, Figura 2.4. *Acuratețea este o abordare combinată a noțiunilor de exactitate și precizie.*

O estimare pentru eroarea totală ϵ , în funcție de eroarea sistematică (măsurată prin deplasarea D) și de eroarea aleatorie (cuantificată prin abaterea standard experimentală s), se obține prin relația

$$\epsilon = s \cdot z + |D| \quad (2.20)$$

Valoarea erorii totale obținute poate fi mai mare decât valoarea calculată cu relația (2.20) cu o probabilitate de 31,75% când $z = 1$, mai mare decât valoarea calculată cu relația (2.20) cu o probabilitate de 4,56% când $z = 2$ și mai mare decât valoarea calculată cu relația (2.20) cu o probabilitate de 1% când $z = 2,50$ (vezi Tabelul 1.2 și Figura 2.2).

Eroarea totală a fost și este încă o noțiune utilizată curent în practica labo-

ratoarelor medicale, dar în ultima decadă eroarea totală a început să fie substituită prin introducerea noțiunii de incertitudine (mai ales în Europa și Australia); practica anilor următori va decide dacă în uz va rămâne doar noțiunea de incertitudine.

La fel ca și pentru noțiunile de exactitate sau de precizie, pentru care în exprimarea cantitativă este mai intuitivă utilizarea noțiunilor de inexactitate respectiv de imprecizie, și pentru acuratețe care se măsoară prin eroarea totală, exprimarea este mai intuitivă dacă se utilizează noțiunea de inacuratețe (când acuratețea crește inacuratețea scade și invers). Când eroarea totală este mare evident și inacuratețea este ridicată, iar când eroarea totală este mică și inacuratețea este redusă, deci o relație de proporționalitate, ceea ce este tocmai invers în cazul exprimării prin termenul de acuratețe. O prezentare sintetică a acestor noțiuni care caracterizează procesul de măsurare este dată în tabelul următor

CARACTERISTICA	DENUMIREA (ENGLEZĂ/FRANCEZĂ)	INFORMAȚII REFERITOARE LA
ACURATEȚE (INACURATEȚE)	ACCURACY /EXACTITUDE	Erori sistematice și erori aleatoare
EXACTITATE (INEXACTITATE)	TRUENESS(BIAS) /JUSTESS	Erori sistematice
PRECIZIE (IMPRECIZIE)	PRECISION /FIDÉLITÉ	Erori aleatoare
REPETABILITATE	REPETABILITY /REPETABILITÉ	Precizie intra-laborator
REPRODUCIBILITATE	REPRODUCIBILITY /REPRODUCIBILITÉ	Precizie între laboratoare

- **Robustețea** (unei metode analitice) - măsură a capacității sale de a genera rezultate neafectată la variații mici, dar controlate, în parametrii metodei; în general se determină care dintre parametri, prin variațiile sale, are efectul cel mai important. În analiza de rutină, o robustețe ridicată a unei metode se reflectă în producerea unor variații nesemnificative sau acceptabile asupra exactității și preciziei la modificări ale parametrilor (condiții de mediu, presiunea apei, lot de reactivi, operator etc). Uzual, robustețea metodei este evaluată pe parcursul dezvoltării metodei, de obicei la laboratorul de origine, deci validarea completă a metodei nu trebuie să includă neapărat testarea robusteții. O apreciere a robusteții se poate obține prin evaluarea diferenței dintre repetabilitatea și reproductibilitatea internă.

2.3.4 Obiective analitice

Pentru o metodă analitică interpretarea mărimilor statistice, obținute prin procesarea rezultatelor unor teste sau prin procesarea datelor din baza de date a controlului intern de calitate, se face prin raportarea/compararea cu anumite obiective analitice, care sunt exprimate prin valori limită pentru performanțele metodei. În urma acestei comparări se estimează calitatea procesului de măsurare pe metoda respectivă și, în consecință, se decide menținerea, îmbunătățirea/optimizarea sau eliminarea metodei. Aceste obiective analitice, pentru parametrii metodei, se fixează sub forma unor valori limită acceptate pe baza de: *criterii clinice, variația biologică, recomandări ale grupurilor de experți, opinii profesionale, performanțele tehnice de vârf obținute prin metodele disponibile pe piață (state-of-the-art, état-de-l'art), rezultatelor obținute în urma unor teste comparative sau alte criterii potrivite* [4] [5] [9] [10] [11].

- **Criterii clinice** Pentru câțiva analiți de interes obiectivele analitice au fost stabilite la nivel internațional sau național. De exemplu, l'European Society of Cardiology și American College of Cardiology prin consens au evaluat, pentru concentrația de troponină serică sau plasmatică, o valoare pentru coeficientul de variație inferior limitei de 10%. La fixarea acestui consens, în anul 2000, nici o metodă analitică nu permitea atingerea acestei ținte, ceea ce a inițiat un efort din partea producătorilor de echipamente pentru realizarea acestui deziderat.

Pentru foarte puțini analiți există valori limită fixate la nivel național pe baza unor criterii clinice. De exemplu, în USA, prin programul de colesterol s-au fixat valorile limită date în tabelul următor:

Parametru	Imprecizia, $CV[\%]$	Inexactitatea, $D[\%]$	Inacuratețea, $\epsilon [\%]$
Trigliceride	5	5	15
Colesterol total	3	3	9
Colesterol LDL	4	4	12

- **Variația biologică.** Foarte frecvent, sunt recomandate limite (pentru: inexactitate, $D\%$; imprecizie, $CV\%$; inacuratețe, $\epsilon\%$) obținute printr-o proporționalitate cu valorile variațiilor biologice intra-individuale, valori exprimate prin CV_I (coeficientul de variație intra-individual, dedus din variația/dispersia biologică intra-individual pentru măsurandul/analitul specificat) și/sau printr-o proporționalitate cu valorile variațiilor biologice inter-individuale exprimate prin CV_g (coeficientul de variație inter-individual dedus din variația/dispersia biologică inter-individual pentru măsurandul/analitul specificat) și/sau combinate ale acestor două. Rațiunea utilizării ca limite, pentru evaluarea unei metode de măsurare, a unor valori proporționale cu valorile variațiilor biologice se bazează pe faptul că aceste valori biologice sunt relevante în decizia clinică. De exemplu, în [4] sunt specificate pentru calculul acestor limite, corespunzătoare la trei niveluri de performanță (dorit, optimal și minimal), relațiile din tabelul următor:

Performanța	Limită optimală (op)	Limită dorită (do)	Limită minimală (min)
Imprecizia	$CV_{op} = 0,25 CV_I$	$CV_{do} \leq 0,5 CV_I$	$CV_{min} \leq 0,75 CV_I$
Inexactitatea	$D_{op} \leq 0,125 \sqrt{CV_I^2 + CV_g^2}$	$D_{do} \leq 0,25 \sqrt{CV_I^2 + CV_g^2}$	$D_{min} \leq 0,375 \sqrt{CV_I^2 + CV_g^2}$
Inacuratețea	$\epsilon_{op} \leq 1,65 CV_{op} + D_{op}$ pentru $p < 0,05$	$\epsilon_{do} \leq 1,65 CV_{do} + D_{do}$ pentru $p < 0,05$	$\epsilon_{min} \leq 1,65 CV_{min} + D_{min}$ pentru $p < 0,05$

Cu valorile pentru CV_I și CV_g , în tabelul de mai jos, sunt calculate valorile limită pentru imprecizie, inexactitate și inacuratețe corespunzătoare celor trei niveluri de performanță pentru doi analiți: calciu și acid uric. O bază de date, actualizată permanent, cu valorile limită specificate pentru peste 300 de măsurări este accesibilă la <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm> sau la <http://www.westgard.com/europe.htm>.

Analitul	Variația biologică		Limita dorită			Limita optimală			Limita minimală		
	CV_I	CV_g	$CV\%$	$D\%$	$\epsilon\%$	$CV\%$	$D\%$	$\epsilon\%$	$CV\%$	$D\%$	$\epsilon\%$
CALCIU	1,9	2,8	1	0,8	2,4	0,5	0,4	1,2	1,4	1,3	3,6
ACID URIC	8,6	17,2	4,3	4,8	11,9	2,2	2,4	6,0	6,5	7,2	17,9

• **Performanțe tehnice de vârf.** De asemenea, valori limită pentru obiective analitice, se pot stabili pe baza performanțelor de vârf ("state-of-the-art") ale tehnicilor utilizate în laboratoarele medicale. În [17] se pot găsi, pentru 116 analiți, astfel de valori limită stabilite în urma analizei performanțelor a multor bune laboratoare medicale din Franța, propunându-se în final ca limite valorile atinse de primele 50% dintre aceste laboratoare. Conform acestui mod de fixare a obiectivelor analitice, de exemplu, valorile pentru calciu și acid uric sunt prezentate în tabelul următor (numerotarea explicativă care urmează corespunde numărului de coloană din tabel):

1. Denumire analit și unitate de măsură.
2. Domeniul de măsurare, corespunde (orientativ) cu domeniul de liniaritate pentru tehnicile utilizate.
3. Domeniul de referință corespunde intervalului în care se situează, uzual, valorile obținute prin tehnicile curente.
4. Niveluri. Nivelul coborât (C) se situează aproape de limita de jos a valorilor de referință. Nivelul mediu (M) se situează aproape de limita superioară a valorilor de referință. Nivelul ridicat (R) se situează la limita superioară de liniaritate a tehnicilor utilizate (valori similare pentru astfel de niveluri sunt specificate și în <http://westgard.com/decision.htm>)

5. Intervalul (de variație în %) reprezintă plaja de variație posibilă, pentru valoarea pentru materialul de control folosit, în testarea metodei curente față de valorile specificate pe coloana 4 din acest tabel.
- 6, 7, 8 și 9 Valorile limită pentru respectiv precizie/impresie (repetabilitate, reproductibilitate internă), exactitate/inexactitate și acuratețe/inacuratețe.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Analitul	Domeniu de măsurare (orientativ)	Domeniu de referință (adult)	Niveluri	Interval val %	Repetabilitate %	Reproductibilitate %	Exactitate %	ϵ %
			C/M/R		C/M/R	C/M/R	C/M/R	C/M/R
Calciu mmol/L	0,50-5,00	2,25-2,60	1,80/2,40/3,40	4	1,2/1,2/1,2	1,6/1,6/1,6	1,7/1,7/1,7	2,3/2,3/2,3
Acid uric μ mol/L	10-1000	150-500	150/300/450	15	2,7/2,4/2,1	3,6/3,2/2,8	7,1/6,2/5,3	8,0/7,0/6,0

În acest tabel inacuratețea (eroarea totală) este calculată cu relația:

$$\epsilon \% = 2\sqrt{\text{exactitatea}^2 + \text{reproductibilitatea}^2}$$

• **Testarea de competență (proficiency testing).** Pentru rezultatul unei analize este necesar a se cunoaște care este valoarea erorii totale admise, TE_a (Allowable Total Error), valoare sub care pentru eroarea totală obținută a unei analize se asigură o interpretarea clinică corectă. În acest sens, trebuie să se stabilească valoarea erorii totale admise la nivelul de decizie medicală respectiv. Pentru clinician, are mai puțină importanță cât din valoarea erorii este datorită efectului sistematic și cât datorită efectului aleatoriu, importantă este valoarea erorii obținute prin măsurare, care trebuie să fie mai mică decât TE_a , și pe baza acestei valori se ia decizia în interpretarea medicală.

Valori de erori totale, ce se pot considera admisibile, TE_a , pot fi determinate prin programe între laboratoare de testare de competență; prin aceste programe în general se obține o valoare centrală "valoare țintă" și un interval în jurul acestei valori, interval care se consideră acceptabil. Prin aceste programe de competență se trimit același tip de probă la mai multe laboratoare participante, fiecare laborator efectuează doar o singură măsurare, apoi prin procesarea acesteia împreună cu rezultatele de la celelalte laboratoare participante se determină intervalul admisibil de valori în jurul unei valori centrale. Deoarece într-un laborator participant se efectuează doar o singură măsurare, în valoarea obținută nu este separată eroarea sistematică de cea aleatorie, deci rezultatul conține o eroare totală, la fel ca și pentru o analiză a unei probe biologice. Iată de ce doar eroarea totală poate fi utilizată ca obiectiv analitic pentru analizele în serie/de rutină (tendința actuală este ca interpretarea medicală să se realizeze cu valoarea incertitudinii extinse și nu cu eroarea totală! vezi cap 3).

O bază de date completă pentru erori totale admisibile, generată de CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) pentru laboratoarele din USA,

poate fi accesată la <http://www.westgard.com/clia.htm>. În această bază valorile limită pentru TE_a sunt prezentate în una din următoarele trei forme Anexa 6, [24]:

1. *Valoarea absolută de concentrație limită*, de exemplu, pentru calciu criteriu este: valoarea țintă ± 1 mg/dL. Pentru o concentrație de 10 mg/dL testul este considerat corect în intervalul de ± 1 mg/dL, care în procente corespunde cu $\pm 10\%$; pentru o concentrație de 7,5 mg/dL testul este considerat corect în intervalul de ± 1 mg/dL, care în procente corespunde cu $\pm 13\%$; pentru o concentrație de 11 mg/dL testul este considerat corect în intervalul de ± 1 mg/dL, care în procente corespunde cu $\pm 9\%$.
2. *Procentaj*, de exemplu, pentru colesterol criteriul este: valoarea țintă $\pm 10\%$. Pentru o concentrație la nivelul clinic de decizie de 200 mg/dL, un test este considerat corect în intervalul de ± 20 mg/dL; $10\% \rightarrow (200/100) \times 10 = 20$. În puține cazuri sunt specificate două limite pentru valoarea erorii totale admise (o limită absolută și un procentaj), cum este cazul pentru glucoză: valoarea țintă ± 6 mg/dL sau valoarea țintă $\pm 10\%$; în acest caz se va alege ca limită admisă valoarea care este mai mare. De exemplu, la nivelul de 60 mg/dL, sau mai jos, valoarea pentru eroarea totală admisă pentru glucoză este cea de 6 mg/dL, care este mai mare (sau egală) decât valoarea calculată cu 10%; la nivelul de 120 mg/dL eroarea totală admisă este de 12,5 mg/dL care reprezintă 10% și nu valoarea de 6 mg/dL care este mai mică.
3. *Abatere standard*, de exemplu pentru hormon de stimulare tiroidian: valoare țintă $\pm 3SD$.

La o metodă analitică de măsurare, cu inexactitatea de valoare ϵ_s , cu imprecizia ϵ_a pentru eroarea totală obținută, $\epsilon = \epsilon_a + \epsilon_s$, trebuie îndeplinită următoarea condiție în raport cu eroarea totală admisă, TE_a

$$\epsilon = \epsilon_a + \epsilon_s \leq TE_a \quad (2.21)$$

2.4 VALIDAREA METODELOR ANALITICE

Validarea metodei [3] se definește ca fiind:

- (a) procesul prin care laboratorul își stabilește caracteristicile de performanță, limitele metodei și, prin care, se identifică factorii care influențează aceste caracteristici precum și gradul de influență al acestor factori; sau
- (b) procesul prin care laboratorul verifică dacă metoda este adecvată scopului în care va fi utilizată.

Un laborator trebuie să își valideze o metodă de lucru când este necesar să stabilească dacă parametrii caracteristici ai metodei sunt adecvați pentru problemele analitice urmărite, cum ar fi:

- atunci când introduce în lucru o metodă pe care nu a mai utilizat-o în trecut;
- atunci când trebuie implementate îmbunătățiri ale metodei ca urmare a introducerii unui tip de reactiv îmbunătățit de către producătorul reactivului (ex. generație nouă de reactivi), schimbării echipamentului, schimbării producătorului reactivilor;
- atunci când metoda este extinsă pentru a fi utilizată și pentru un alt scop decât cel de până în prezent (ex. extinderea utilizării metodei de determinare a glucozei din ser și pentru determinarea glucozei din urină);
- atunci când rezultatele controlului de calitate indică o modificare a performanțelor metodei;
- pentru a demonstra echivalența a două metode utilizate în laborator (ex. o metodă nouă introdusă față de metoda utilizată până în prezent, sau față de o metodă standardizată);
- pentru a demonstra echivalența metodei cu instrumente diferite;
- atunci când se introduce o metodă validată într-un alt laborator, dar se utilizează echipament sau operator diferit.

Chiar și atunci când se introduc în lucru metode standardizate sau publicate în literatura de specialitate este necesară o validare pentru a stabili modul în care laboratorul reușește să obțină performanța indicată în referențial (standard, literatură, specificațiile producătorului date în prospectul de lucru etc.).

Actual, există tendința ca la instalare echipamentului să se efectueze teste de validare din partea producătorului/distribuitoarei echipamentului. Aceste teste efectuate nu trebuie preluate și considerate automat valide de către laborator. Laboratorul trebuie să analizeze aceste teste, să proceseze statistic datele colectate și să aibă responsabilitatea interpretărilor și concluziilor.

2.4.1 Condițiile tehnice în care se realizează metoda

Validarea metodei trebuie să se realizeze în următoarele condiții:

- Responsabilul de validare trebuie să fie o persoană competentă;
- Condițiile de mediu cerute de specificațiile metodei (ex. specificațiile date de producătorul echipamentului, reactivilor, literatura de specialitate) trebuie să fie satisfăcute;
- Echipamentul de măsurare trebuie să fie în bună stare de funcționare, trebuie să fie etalonat înainte de validare (când este cazul) și calibrat corespunzător;
- Reactivii sunt adecvați lucrului cu echipamentul care urmează a fi validat și sunt în termen de valabilitate;
- Materialele de referință utilizate în procesul de validare trebuie să fie adecvate metodei care urmează a fi validată (ex. tabelele de valori ale concentrațiilor analiților serului de control intern au valori specifice analizorului și principiului chimic ce urmează a fi utilizate) și trebuie să fie în termen de valabilitate

1. Specificarea metodei cuprinde:

- *Denumirea încercării* (ex. CRP din ser prin turbidimetrie)
- *Măsurand* (ex. WBC; RBC etc);
- *Sursa metodei* (ex. Metodă dezvoltată în laboratoarele Abbott-SUA, nu s-a adus modificări metodei).

2. Responsabil de validare, calificat (ex. Anca Popescu - biolog).

3. Condițiile de mediu cerute de: specificațiile metodei, specificațiile date de producătorul echipamentului, reactivilor, literatura de specialitate, să fie îndeplinite (ex. temperatură 21°C, umiditate 52%).

4. Echipamentul este în bună stare de funcționare, este etalonat înainte de validare și calibrat corespunzător. Se specifică

- *Denumire, producător, serie, nr. inventar*
- *Certificatul de etalonare* (ex. valoarea incertitudinii extinse $U = ?$, pentru $k = ?$)
- *Domeniul de măsurare*, conform specificațiilor producătorului, (ex. $D_M = 0.07 - 20 \text{ mg/dL}$)

- *Curba de calibrare* (se atașează în anexe, se specifică modul de obținere)

- *Înregistrări de mentenanță*

5. **Reactivii utilizați** sunt adecvați lucrului cu echipamentul care urmează a fi utilizat și sunt în termen de valabilitate (ex. Reactiv Greiner, lot 6032010, expiră la data de 10/2008)

6. **Materiale de referință** utilizate în procesul de validare sunt adecvate metodei care urmează a fi validată și sunt în termen de valabilitate (ex. când materialul de referință este substituit de ser de control 1 - Ser de control valori normale: Monitrol I, lot TLM 08111 cu valori în intervalul 4,4 - 6,6 mg/dL, valoare țintă = 5,5 mg/dL, deviație standard $SD = 0,635$ mg/dL; 2 - Ser control valori patologice Monitrol II, lot TLM 08112 cu valori în intervalul 9,2 - 13,8 mg/dL, valoare țintă = 11,5 mg/dL, deviație standard $SD = 1,329$ mg/dL; și pentru alte valori de concentrații dacă este cazul).

2.4.2 Parametrii caracteristici ai metodelor analitice

Informațiile folosite pentru validarea unei metode pot fi obținute prin testări realizate în laborator în acest scop sau din datele din baza de date rezultate din controlul intern de calitate sau din alte surse (informații date de producătorul reactivilor/echipamentului, literatura de specialitate, standarde de metode etc.).

Se disting trei tipuri de metode analitice în laboratoarele de analize medicale:

1. *Metode cantitative* - care furnizează un rezultat numeric, între o limită inferioară și una superioară cunoscute, obținut printr-o măsurare asupra unui analit (analize de biochimie, imunologie, numărare de globule).
2. *Metode calitative* - care nu furnizează o informație cantitativă asupra unui analit ci doar o informație despre prezență sau absență (pozitiv/negativ) sau, eventual, prezența peste un anumit nivel, cazul titrărilor (serologie virală și parazitară).
3. *Metode semicantitative* (asimilabile celor cantitative) - care furnizează o informație calitativă prin extrapolarea unui rezultat cantitativ obținut prin măsurare (analize de imunocromatografie, imunoelectroforeză, imunofluorescență). Parametrii caracteristici indicați pentru verificare în cadrul unui proces de validare pentru o metodă analitică din laboratoarele de analize medicale conform [5] sunt prezentați în tabelul următor

Metode cantitative	Metode calitative	Metode semicalitative
Specificitate	Specificitate	Specificitate
Precizie: Repetabilitate Reproductibilitate internă	NA	Repetabilitate Reproductibilitate internă
Exactitate	NA	NA
Domeniu de analiză/măsurare	NA	NA
Limite: de detecție de cuantificare	Sensibilitate diagnostică (Probabilitatea obținerii unui rezultat pozitiv în prezența unui marker țintă)	Sensibilitate diagnostică (Probabilitatea obținerii unui rezultat pozitiv în prezența unui marker țintă)
Contaminare între probe (dacă este cazul)	Contaminare între probe (dacă este cazul)	Contaminare între probe (dacă este cazul)
Liniaritate	NA	NA
Stabilitate	Stabilitate	Stabilitate
Valori de referință (de ex. valori normale)	NA	NA
Interferențe	Interferențe	Interferențe
Robustețe	Robustețe	Robustețe
Corelare cu metodă de referință*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*	Corelare cu metodă de referință*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*	Corelare cu metodă de referință*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*

NA - neaplicabil; * de fiecare dată când este necesar

În continuare se va prezenta un set minim de parametri, necesar a fi verificați în procesul de validare pentru metodele cantitative.

Selectivitatea/specificitatea exprimă abilitatea unei metode de a determina exact și specific analitul de interes în prezența altor componente în matricea probei.

Întâi, se studiază abilitatea metodei de identificare a analitului de interes în probe și în materiale de referință prin compararea cu rezultatele acelorași măsurări realizate pe o metodă de confirmare. Apoi, estimarea abilității metodei de a măsura analitul de interes se studiază doar pe metoda de testat dar pe probe la care în mod deliberat s-a realizat interferență. O metodă este specifică atunci când asigură o selectivitate de 100%. Parametru selectivitate este aplicabil atât la metodele cantitative cât și calitative. Pentru metodele automate de rutină asigurarea unei specificități se realizează prin însăși proiectarea și realizarea autoanalizorului. O sistematizare pentru modalitatea de confirmare a identității și a selectivității/specificității este redată în tabelul următor[3]

Metode cantitative	Metode calitative	Metode semicalitative
Specificitate	Specificitate	Specificitate
Precizie: Repetabilitate Reproductibilitate internă	NA	Repetabilitate Reproductibilitate internă
Exactitate	NA	NA
Domeniu de analiză/măsurare	NA	NA
Limite: de detecție de cuantificare	Sensibilitate diagnostică (Probabilitatea obținerii unui rezultat pozitiv în prezența unui marker țintă)	Sensibilitate diagnostică (Probabilitatea obținerii unui rezultat pozitiv în prezența unui marker țintă)
Contaminare între probe (dacă este cazul)	Contaminare între probe (dacă este cazul)	Contaminare între probe (dacă este cazul)
Liniaritate	NA	NA
Stabilitate	Stabilitate	Stabilitate
Valori de referință (de ex. valori normale)	NA	NA
Interferențe	Interferențe	Interferențe
Robustețe	Robustețe	Robustețe
Corelare cu metodă de referință*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*	Corelare cu metodă de referință*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*	Corelare cu metodă de referință*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*

NA - neaplicabil; * de fiecare dată când este necesar

În continuare se va prezenta un set minim de parametri, necesar a fi verificați în procesul de validare pentru metodele cantitative.

Selectivitatea/specificitatea exprimă abilitatea unei metode de a determina exact și specific analitul de interes în prezența altor componente în matricea probei.

Întâi, se studiază abilitatea metodei de identificare a analitului de interes în probe și în materiale de referință prin compararea cu rezultatele aceluiași măsurări realizate pe o metodă de confirmare. Apoi, estimarea abilității metodei de a măsura analitul de interes se studiază doar pe metoda de testat dar pe probe la care în mod deliberat s-a realizat interferență. *O metodă este specifică atunci când asigură o selectivitate de 100%.* Parametru selectivitate este aplicabil atât la metodele cantitative cât și calitative. Pentru metodele automate de rutină asigurarea unei specificități se realizează prin însăși proiectarea și realizarea autoanalizorului. O sistematizare pentru modalitatea de confirmare a identității și a selectivității/specificității este redată în tabelul următor[3]

Ce trebuie făcut...	...de câte ori	Calculare/determinare	Comentarii
Analiza de probă de analit și de material de referință atât prin metoda testată cât și prin alte metode de confirmare	1	Compararea rezultatelor obținute de la metoda testată cu cele obținute de la metoda de confirmare pentru a evalua abilitatea de identificare a analitului și abilitatea de măsurare a analitului pe metoda testată	Din analiza comparării se decide dacă metoda testată este sigură /(sau nu) în funcționare
Analiză de probe de analit ce conțin interferențe în diferite cantități (doar pe metoda testată)	1	Examinarea efectului de interferență: crește sau scade abilitatea de identificare și de măsurare a analitului de interes pe metoda testată	În cazul în care identificarea sau măsurarea analitului sunt micșorate de interferență se trece la o dezvoltare suplimentară a metodei

7. Limita minimă de detecție, L_D - cea mai mică valoare (cantitate, concentrație) care poate fi detectată (cu o probabilitate statistică predeterminată) și distinctă față de blank. Când măsurările sunt făcute la nivele joase de concentrație, de exemplu în analiză de urme, este important a se cunoaște care este cel mai scăzut nivel de concentrație ce poate fi detectat sigur prin metoda respectivă.

Limita minimă de detecție se determină astfel: se măsoară zece probe independente de blank (concentrație zero pentru analitul de interes sau poate fi calibratorul "zero standard" din trusa de lucru a analizorului), fiecare o singură dată. Din seria de zece măsurări se determină media $\bar{x}_{\text{probă-blanc}}$ și abaterea standard experimentală, $SD_{\text{probă-blanc}}$, iar valoare limitei minime de detecție rezultă prin relația

$$L_D = \bar{x}_{\text{probă-blanc}} + 3 \cdot SD_{\text{probă-blanc}}$$

Practic și mai simplu, decât măsurări asupra unui blank, pentru limita minimă de detecție, se consideră valoarea $L_D = 3 \cdot SD_Q$; SD_Q este abaterea standard experimentală determinată pentru limita minimă de măsurare L_Q .

Pentru determinările calitative limita minimă de detecție, L_D , este, de exemplu, valoarea "cut-off", care este indicată în prospectul kitului de reactiv. Dificultatea în determinarea limitei de detecție apare datorită faptului că probabilitatea de detecție a analitului nu are un salt brusc de la 0 (0%) la 1 (100% detecție certă) când se trece printr-o valoare de prag. În consecință, limita de detecție este considerată ca fiind acel nivel de concentrație sub care detectarea este nesigură (< 100%). Această limită se poate determina și prin măsurare de probe de blank fortificate cu diferite niveluri de concentrație de analit. Pentru fiecare nivel de concentrație de analit se realizează aproximativ 10 măsurări și se determină în procente cât reprezintă numărul de răspunsuri pozitive(sau negative) față de numărul de probe efectuate pentru acel nivel. Se poate trasa o diagramă a valorilor procentului de rezultate pozitive(sau de negative) obținute în funcție

Concentrația $\mu g/g$	Nr. de determinări	Rezultat pozitiv
200	10	10/10, (100%)
100	10	10/10, (100%)
75	10	5/10, (50%)
50	10	1/10, (10%)
25	10	0/10, (0%)

de concentrația de analit, iar prin inspecția acestei diagramei se deduce sub ce nivel/prag de concentrație specificitatea metodei devine nesigură. De exemplu, în tabelul anterior o identificare pozitivă cu probabilitatea de 100% încetează sub pragul de concentrației de $100 \mu g/g$ (= cut-off). Acest prag ("cut-off") poate varia dacă experimentul este repetat altă dată, cu diferiți reactivi, materiale fortificate etc.

În [21] se specifică: conform reglementările de laborator din USA verificarea limitei de detecție este aplicabilă pentru oricare metodă analitică modificată sau dezvoltată de laborator (în house). Dar, termenul "este aplicabilă" înseamnă că verificarea sau stabilirea limitei de detecție este cerută numai de acele metode analitice unde această performanță caracteristică este critică, ca de exemplu: medicină legală sau teste de terapie medicamentoasă; PSA și alți markeri tumorali; TSH și teste imunologice similare, dar nu este aplicabilă pentru analize de glucoză, colesterol, enzime și alți analiți unde domeniul de măsurare este mult mai relevant pentru interpretare unui test.

Limitele de măsurare. Aceste limite sunt:

8. Limita minimă de măsurare/cuantificare, L_Q - este cea mai mică valoare (cantitate, concentrație) care poate fi determinată cantitativ cu un nivel acceptabil al repetabilității și exactității (cu calibratori); sub această valoare o metodă poate furniza doar date calitative. Această limită se determină prin *testarea mai multor probe preparate*, cu concentrații mici, apropiate (sau egală) de limita minimă de măsurare specificată de producătorul kitului de reactivi. Aceste probe cu concentrații mici se pot obține din calibratorul sau serul pentru controlul intern de calitate, cu concentrația cea mai mică, prin diluții conform schemei: $100 + 0$; $90 + 10$; ...; $20 + 80$; $10 + 90$; $0 + 100$, în total 11 probe.

Pentru fiecare probă se realizează o serie de zece teste, apoi pentru fiecare serie se determină: valoarea medie \bar{x} , abaterea standard experimentală SD și coeficientul de variație CV ; aceste date se atașază în anexele raportului de validare. Se consideră ca limită minimă de măsurare L_Q concentrația probei cu valoarea cea mai mică și pentru care abaterea standard relativă (RSD_Q) are o valoare acceptabilă, de exemplu $CV < 10\%$. În determinarea limitei L_Q se impun următoarele două observații:

- a) Dacă limita minimă a curbei de calibrare (blanc-point), L_{Cm} , este mai mare decât limita minimă de măsurare, $L_{Cm} > L_Q$, atunci trebuie acordată atenție modului în care se realizează extrapolarea. În acest caz dacă se utilizează un analizor automat, atunci limita minimă de măsurare pe care o poate obține laboratorul este dată de limita minimă a curbei de calibrare, $L_Q = L_{Cm}$.
- b) Dacă limita minimă a curbei de calibrare (blanc-point) este dată de valoarea zero a concentrației, $L_{Cm} = 0$, atunci limita minimă de măsurare a analitului, L_Q , va fi probabil mai mare decât zero și trebuie determinată ca mai sus *dacă această limită este relevantă din punct de vedere clinic* (ex. este relevant să se cunoască limita minimă de detecție în cazul markerilor de diagnostic post - operator cum sunt markerii tumorali sau markerii de antirejecție a transplantului).

Valoarea determinată a limitei minime de măsurare poate fi considerată ca limita inferioară (L_I) pentru domeniul de măsurare al aparatului dacă această limită inferioară nu este specificată de producător.

9. Limita maximă de măsurare, L_M , - este cea mai mare valoare (cantitate, concentrație) care poate fi determinată cantitativ cu un nivel acceptabil al preciziei și exactității (cu material de referință).

Această limită se determină prin testarea mai multor probe preparate cu concentrații mari, aproape de limita maximă de măsurare specificată de producătorul kit-ului de reactivi. Pentru fiecare probă se realizează o serie de zece teste, apoi cu datele din fiecare serie se calculează valoarea medie și abaterea standard experimentală; datele culese se atașază în anexele raportului de validare. Se consideră ca limită maximă de măsurare proba cu cea mai mare concentrație și pentru care deviația standard relativă are o valoare acceptabilă. În determinarea limitei L_M se impun următoarele două observații:

- a) În cazul în care curba de calibrare a analizorului este liniară, atunci limita maximă de măsurare este egală cu valoarea limita maximă (L_{LM}) a caracteristicii liniare, $L_M = L_{LM}$ (în general, liniaritatea analizorului se asigură până la limita superioară, L_S , a domeniului de măsurare, D_M , deci $L_{LM} = L_S$).
- b) În cazul în care curba de calibrare a analizorului nu este liniară și după punctul de calibrare maxim, L_{CM} (de exemplu determinări imunologice), atunci trebuie acordată atenție modului în care se realizează extrapolarea. În acest caz dacă se utilizează un analizor automat, atunci limita maximă de măsurare pe care o poate obține laboratorul este dată de limita maximă a curbei de calibrare, $L_M = L_{CM}$.

10. Domeniul de măsurare, D_M - este intervalul între nivelul inferior, L_I , și cel superior, L_S , de concentrație de analit, în care se demonstrează precizie, exactitate (și liniaritate) cerute de aplicație.

Producătorul specifică pentru domeniul de măsurare printr-o limită inferioară și o limită superioară, $D_M = [L_I, L_S]$. Dacă domeniul de măsurare nu este specificat de producător acesta trebuie determinat conform procedurii expus (vezi pagina 46).

Valorile pentru limita inferioară și pentru limita superioară se pot fixa și în felul următor: ca limită inferioară se va considera limita minimă de măsurare/(detecție), $L_I = L_Q$, iar ca limită superioară se va considera limita maximă de măsurare, $L_S = L_M$, dar între aceste limite caracteristica de transfer trebuie să fie liniară.

Dacă domeniul de măsurare este specificat de producător, prin limita inferioară și limita superioară, nu mai este necesar să se determine aceste limite ci doar să se verifice realizarea acestor valori. Pentru verificare se prepară două concentrații a căror valori sunt egale sau foarte apropiate de limita inferioară și de limita superioară, fiecare concentrație se măsoară (după ce analizorul a fost calibrat) de trei ori și se efectuează media; se analizează dacă aceste valori medii obținute coincid cu valorile date pentru limita inferioară respectiv superioară ale domeniului specificat de producător. Pentru verificarea liniarității se prezintă dreapta de calibrare în intervalul $[L_I, L_S]$.

Laboratorul trebuie să arate că domeniul de măsurare, D_M , include domeniul de referință biologic, D_R (domeniul de valori normale pentru populația de pacienți care se adresează laboratorului în mod obișnuit), $D_R \subset D_M$, dar, mai mult, acoperă și domeniul $D_{R'}$ al valorilor normale completat cu valorile patologice, adică și $D_{R'} \subset D_M$. Dacă unele valori pentru probe patologice depășesc limita superioară L_S , atunci pentru măsurarea acestor probe se fac diluții. Valorile pentru D_R se determină din literatura de specialitate sau se calculează statistic pe eșantionul de populație (normală) care se adresează laboratorului.

11. Liniaritatea. Curba de calibrare, atașată în anexele raportului de validare, definită pe domeniul $D_C = (L_{Cm}, L_{CM})$, între limita minimă de calibrare ①, L_{Cm} (blanc-point) și limita maximă de calibrare ②, L_{CM} (set-point), este liniară, vezi Figura 2.11. De regulă analizoarele automate realizează o liniaritate și după limita maximă de calibrare (set-point), până la limita de liniaritate maximă, L_{LM} . În general, această limită de liniaritate maximă este egală cu limita superioară L_S a domeniului de măsurare, $L_{LM} = L_S (= L_M)$. Și în partea inferioară a caracteristicii de transfer există de regulă liniaritate până la valoarea $L_I (= L_Q)$ astfel că se poate considera liniaritate pe întreg domeniul de măsurare. Rezultă că domeniul de măsurare este egal cu domeniul de calibrare sau include pe acesta $D_C \subseteq D_M$, iar între cele trei domenii, de regulă, există următoarea relație de incluziune $D_R \subset D_C \subseteq D_M$. În cazul în care se dorește verificarea liniarității caracteristicii de transfer (curba de calibrare) a analizorului se procedează ca în secțiunea 2.3.1. Liniaritate și se calculează valoarea coeficientului de corelație, relația (2.12), sau se verifică orizontalitatea la ordonata de valoare 1 a caracteristicii $(x_i, y_i/x_i)$ sau a caracteristicii $(\log x_i, y_i/x_i)$.

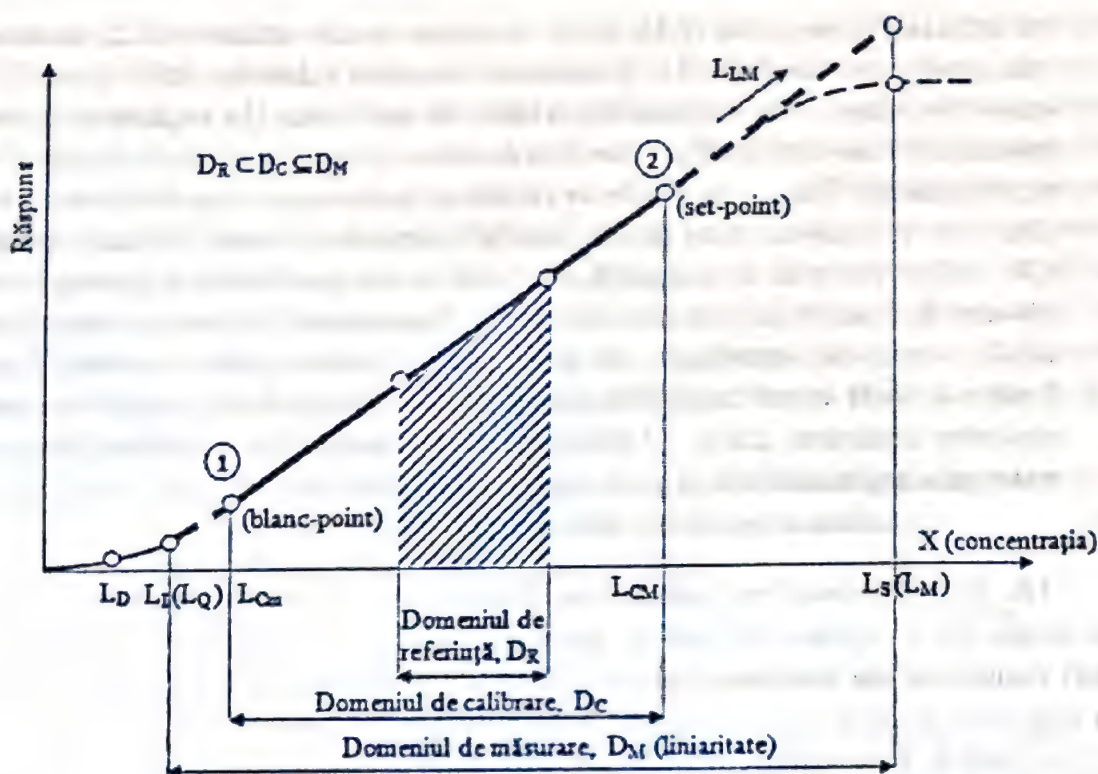


Figura 2.9 Caracteristica de transfer cu poziționarea posibilă a limitelor L_D , $L_I(\approx L_Q)$, L_{CM} , L_{CM} , L_{LM} , $L_S(\approx L_M)$ și a domeniilor de referință, D_R , de calibrare, D_C și de măsurare, D_M .

12. Precizia/Imprecizia. Pentru stabilirea impreciziei laboratorul trebuie să determine repetabilitatea și reproductibilitatea (internă) pe materiale de testare uzuale accesibile cum sunt: soluții standard, materiale de control (pentru controlul intern) și pe probe de pacienți, la niveluri de decizie medicală, două sau trei niveluri de concentrație sunt suficiente (<http://www.westgard.com/decision.htm>).

- Repetabilitatea.** Se poate realiza pe un pool de seruri de pacienți, pe un ser de control sau pe un ser de pacient, mai multe măsurări, una după alta, în aceleași condiții, cu același echipament, reactivi, operator, într-un interval de timp scurt și va calcula (cu relațiile (2.1) - (2.4): valoarea medie aritmetică \bar{x} , abaterea standard experimentală SD și abaterea standard relativă, RSD (sau CV), datele obținute se atașează în anexă. Valoarea pentru CV (SD) trebuie să fie mai mică sau egală cu cea specificată de producătorul kit-ului de reactivi sau a echipamentului (dacă această informație este disponibilă) sau a unor valori limită date în literatura de specialitate (vezi obiective analitice, 2.3.4)
- Reproductibilitatea internă** (precizia intra-laborator, vezi pagina 54). Se măsoară mai multe replici, pe un pool de seruri de control, în aceleași condiții, cu același echipament, reactivi, operator, dar în zile diferite și se

va calcula (cu relațiile (2.1) -(2.4) valoarea medie aritmetică \bar{x} , abaterea standard experimentală SD și abaterea standard relativă, RSD (sau CV), datele se atașează în anexele raportului de validare. (În raportare trebuie specificate care din condițiile de măsurare sunt modificate față de testul de repetabilitate). Pentru analizele de rutină se recomandă să se utilizeze datele din baza de date obținute prin controlul intern de calitate. Valoarea pentru CV (SD) trebuie să fie mai mică sau egală cu cea specificată de producătorul kit-ului de reactivi sau a echipamentului (dacă această informație este disponibilă), decât cea specificată de producătorul materialului de referință utilizat sau decât valori limitative specificate în literatura de specialitate (vezi obiective analitice, 2.3.4). O diferență mică între cele două valori (determinate prin repetabilitate și prin reproductibilitate internă) ale coeficienților de variație indică o robustețe ridicată pentru metodă !

13. Exactitatea/Inexactitatea. Laboratorul trebuie să stabilească inexactitatea (D - deplasarea/bias-ul) prin măsurări pe materiale de referință cu valori cunoscute ale concentrației analiților, la niveluri de decizie medicală, două sau trei niveluri de concentrație sunt suficiente (<http://www.westgard.com/decision.htm>).

Se măsoară mai multe replici ale materialului de referință, în aceleași condiții, cu același echipament, reactivi, operator, în zile diferite și se va estima valoarea medie \bar{x} , datele se atașează în anexele raportului de validare. Conform relației (2.9) se calculează deplasarea în valoare absolută sau procentuală

$$D = \bar{x} - a \quad \text{sau} \quad D[\%] = \frac{\bar{x} - a}{a} \cdot 100$$

în care a este valoarea țintă a materialului de referință.

În cazul când nu se dispune de materiale de referință, pentru determinarea exactității în locul acestora, cu precauție, pot fi utilizate materiale de control special proiectate și realizate pentru metoda respectivă de analiză de către producătorul echipamentului [22].

De asemenea, pot fi utilizate probe de pacient care se măsoară, la un interval de timp nu mai lung de două ore, atât pe metoda de validat cât și pe o metodă de comparație (de referință). Fiecare probă poate fi măsurată de câteva ori atât prin metoda de validat cât și prin metoda de comparație, apoi se face media pentru fiecare [21]. Diferența între valorile medii obținute pentru fiecare probă este valoarea deplasării, la concentrația corespunzătoare probei respective, considerându-se implicit ca valoare de referință cea generată prin metoda de comparație. Ca metodă de comparație poate fi selectată o metodă de referință sau, cel mai frecvent, o metodă de rutină din laborator ale cărui rezultate s-au dovedit a fi corecte în urma unor studii comparative cu o altă metodă dovedită a fi mai exactă și/sau în urma testării cu materiale standard trasabile.

Valoarea calculată a deplasării trebuie să fie mai mică sau egală cu valoarea permisă specificată de producătorul reactivilor sau analizorului, dacă această infor-

mație este disponibilă sau mai mică decât valorile limită date în literatură (vezi obiective analitice 2.3.4). Dacă valoarea minimă permisă a deplasării nu este specificată de producător, atunci laboratorul trebuie să își stabilească propriile criterii.

Inexactitatea poate fi estimată și pe baza rezultatelor obținute în urma comparării interlaboratoare, când deplasarea se calculează prin diferența între valoarea medie a laboratorului și valoarea medie obținută de grupul de comparație; rezultatul poate fi exprimat și ca un scor Z , relația (2.16). Pentru practica medicală, cea mai recomandată variantă, este obținerea valorii deplasării în urma unui proces de intercomparări, deoarece obținerea deplasării numai prin măsurări în cadrul laboratorului depinde foarte mult de materialul de referință utilizat, care, în general, nu certifică valori trasabile la SI.

14. Incertitudinea de măsurare. Se specifică metoda de estimare a incertitudinii de măsurare. Se atașează bugetul de incertitudine, Tabelul 3.3, vezi Cap 3.

Caracteristicile care trebui verificate pentru validarea unei metode analitice sunt [21]:

- domeniul de măsurare și includere în acesta a domeniului de referință
- precizia
- exactitatea
- incertitudinea de măsurare;

Pentru metodele modificate sau dezvoltate în laborator (în house) se impune verificarea și pentru:

- limita de detecție/(de măsurare)
- interferențe

2.4.3 Structurarea raportului de validare

Raportul de validare ar trebui să cuprindă componente prezentate anterior și poate fi structurat tabelar ca mai jos (un exemplu detaliat este prezentat în ANEXA 3)

1. Prezentarea condițiilor în care a fost realizată validarea, punctele 1 - 6 de la secțiunea 2.4.1 (metoda, responsabil, condiții de mediu, echipamente, reactivi, materiale de referință).
2. Prezentarea parametrilor caracteristici ai metodei, punctele 7 - 14 de la secțiunea 2.4.2, pentru demonstrarea adecvării la scop ("fitness for purpose") și a performanțelor pentru metoda analizată.

Nr. crt.	Denumire (parametru)	Valori determinate corelate, cu valorile limitative (mod de lucru, explicații, comentariu)
	⋮	⋮
10	Domeniul de măsurare, D_M și de referință, D_R	<ul style="list-style-type: none"> - $D_M = 0 - 150$ mmol/L, definit de producătorul echipamentului. S-a verificat prin testare limitele domeniului de măsurare, $L_I = 0$ și $L_S = 150$ - Din curba de calibrare (Anexa *) rezultă liniariate pe domeniul $D_C = 0 - 120$ mmol/L, deci $D_C \subset D_M$. - $D_R = 30 - 70$ mmol/L, (determinat statistic, sau din literatura de specialitate) deci $D_R \subset D_C \subset D_M$, <p>Metoda asigură liniariate în măsurarea probelor pentru populația de pacienți care se adresează laboratorului.</p>
	⋮	⋮
13	Inexactitatea	<ul style="list-style-type: none"> - $D = 1,2\% < 1,4\%$ (limită specificată de producătorul reactivului sau producătorul analizorului sau calculată din variațiile biologice vezi obiective analitice 2.3.4) S-au efectuat 20 de măsurări, vezi Anexa *, pe materialul de referință ..., cu valoarea țintă $a = \dots$, valoarea medie calculată $\bar{x} = \dots$ (calculul se realizează cu relația 2.9-b). (Se recomandă testarea la încă un nivel critic de decizie medicală). <p>În cazul în care determinarea se bazează pe intercomparări:</p> <ul style="list-style-type: none"> - $D = \bar{x} - X = \dots$ (vezi pag. 48). Valorile obținute în urma testelor în laborator, pentru calculul mărimii \bar{x} sunt date în Anexa *. Se poate calcula scorul Z, relația (2.18); dacă, de exemplu, valoarea acestuia rezultă $Z=0,25$ interpretarea este următoarea: probabilitatea de a produce rezultate exacte este de 90,23%. (Pentru $Z = 0,25 = t$ din Tabelul 1.1 rezultă probabilitatea 9.87% cu care se obțin măsurări cu o deplasare mai mare decât $\bar{x} - X$ în raport cu valoarea adevărată X, deci se obțin măsurări cu o deplasare mai mică decât $\bar{x} - X$ în raport cu valoarea adevărată X, cu o probabilitate de $100\% - 9,87\% = 90,23\%$)

* Anexe care se atașează raportului de validare.

3. Anexe care să cuprindă documente doveditoare (curba de calibrare, tabele cu datele culese în urma testelor sau alte documente relevante).
4. Concluzii cu privire la satisfacerea cerințelor, încheiate cu
5. O declarație de validitate a metodei.

Un model pentru Concluzii ar putea fi:

- Au fost îndeplinite condițiile de mediu recomandate de producătorul analizorului pentru o bună funcționare a acestuia (temperatura cuprinsă între 16 - 32°C, umiditate cuprinsă între 45-55%, echipamentul este în bună stare de

funcționare, fiind etalonat și calibrat, reactivii și materialele de referință au fost adecvați lucrului și în termen de valabilitate).

- Domeniul de măsurare al aparatului cuprinde domeniul de normalitate pentru pacienți care se adresează în mod curent laboratorului.
- Metoda îndeplinește *criteriul de precizie* cerut pentru analizele efectuate (ex. valorile pentru CV sunt \leq decât cele specificate în literatura de specialitate sau cele specificate ca fiind admise pentru echipament sau pentru serurilor de control utilizate).
- Metoda îndeplinește *criteriul de exactitate* cerut pentru analizele efectuate (ex. valorile pentru $D\%$ sunt \leq decât cele specificate în literatura de specialitate sau cele specificate ca fiind admise pentru echipament sau pentru serurilor de control utilizate).
- Incertitudinea asociată metodei de măsurare (care exprimă atât repetabilitatea cât și exactitatea) este în limitele normale pentru această metodă.
- În concluzie,
Metoda analizată este adecvată scopului. Acest raport de validare este valabil pentru echipamentele și reactivii utilizați.

Responsabil Analiză, 
Biolog Anca Popescu

Șef Laborator
Dr. Andrei Popescu

2.5 CONTROLUL INTERN AL CALITĂȚII

Obiectivul major al activității unui laborator medical este să genereze, pentru probele analizate, rezultate corecte și de încredere. În obținerea de rezultate corecte și de încredere coroborează toate cele trei etape din traseul de efectuare a analizelor: preanalitică, analitică și postanalitică, iar pentru asigurarea acestor rezultate, în fiecare din aceste etape, trebuie instituit un adecvat control de calitate QC (Quality Control).

În acest subcapitol se va prezenta controlul de calitate intern pentru etapa analitică, control prin care se realizează și se evaluează nivelul de calitate impus/cerut unei măsurări analitice. Numărul mare de laboratoare, și mai ales numărul mare de analize efectuate zilnic într-un laborator medical, imprimă domeniului de laboratoare medicale un statut de mediu de producție similar cu cel al unităților de producție industrială. Această similaritate a determinat ca pentru controlul de calitate analitică din laboratoarele medicale să fie adaptate metodele, deja cunoscute, din domeniul industrial. Aceste metode și procedurile adaptate se datorează în mare parte lui James O. Westgard, iar materialul din acest subcapitol se bazează pe lucrările [21], [22], [24].

Pentru evaluare calității analitice dintr-un laborator medical trebuie în primul rând să se stabilească anumite criterii de calitate cum ar fi, de exemplu: rezultatul analitic (eroarea analitică totală admisă, TE_a), performanțele analitice (deviația standard maximă, deplasarea maximă), specificații operaționale (precizia, exactitatea, regulile de control și numărul de teste pentru control) și nu în ultimul rând criteriul semnificației clinice (modificările semnificative în valorile a două teste ale unui pacient care pot conduce la diferite decizii clinice). O procedură QC trebuie să: 1. detecteze imediat o eroare de măsurare datorată sistemului, cauzată de schimbările adverse ale condițiilor de funcționare sau de modificarea performanțelor operatorului; 2. monitorizeze în timp performanțele de precizie și de exactitate (care pot fi influențate de schimbările de performanță ale sistemului testat, de condițiile de mediu, precum și de performanțele operatorului).

Efectuarea controlului intern este o cerință majoră a standardului SR EN ISO 15189:2007. Această cerință trebuie să fie reflectată, într-un laborator medical, printr-o activitate de control continuu și pe termen lung.

2.5.1 Evaluarea calitativă a performanțelor unei metode analitice

- Evaluarea performanțelor unei metode analitice cantitative.

Compararea erorii totale obținute, ϵ , cu valoarea erorii totale admise, TE_a , Anexa 6, [24], este în fond un criteriu de evaluare a calității unei metode analitice. Pe baza acestei idei James O. Westgard a conceput și dezvoltat o metodă grafică - Diagrama de Decizie (Decision chart) - pentru evaluarea metodelor analitice

<http://www.westgard.com/mvtools.html>.

Eroarea totală, Figura 2.4, se obține prin însumarea componentei sistematice (D , bias/deplasare) cu componenta aleatorie (SD sau multiplu de deviație standard), iar conform relației (2.21) această sumă trebuie să fie mai mică decât eroarea totală admisă, TE_a . Mai mult, chiar dacă în procesul de măsurare apare o creștere a erorii este normal ca eroarea totală obținută să fie mai mică decât eroarea totală admisă. Aceasta impune ca metoda să permită pentru eroarea sa o rezervă /toleranță de eroare până să atingă valoarea impusă TE_a , Figura 2.10.

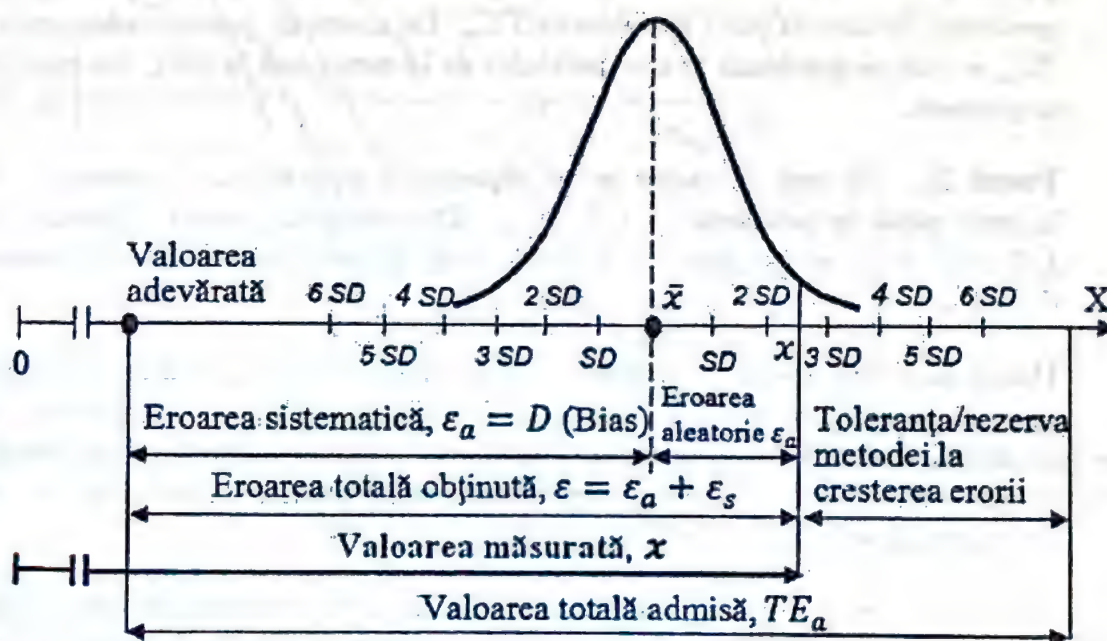


Figura 2.10 Corelarea între eroarea totală obținută ϵ și eroarea totală admisă TE_a . Se observă rezerva de creștere a erorii până la atingerea valorii erorii totale admise, TE_a .

Limitele de performanță, pentru eroarea totală obținută pentru metoda de măsurare în funcție de valoarea erorii totale admise, TE_a , se pot impune prin următoarele relații de inegalitate:

1. $D + 2 \cdot SD \leq TE_a$
 2. $D + 3 \cdot SD \leq TE_a$
 3. $D + 4 \cdot SD \leq TE_a$
 4. $D + 5 \cdot SD \leq TE_a$
 5. $D + 6 \cdot SD \leq TE_a$
- (2.22)

care, în fond, fixează criterii/limite pentru eroarea totală obținută (suma dintre eroarea sistematică și multiplu de deviație standard SD (eroarea aleatorie) să fie mai mică sau egală decât eroarea totală admisă, TE_a). Deci calitatea pentru o metodă analitică se poate exprima prin rezerva de eroare (măsurată în multipli de SD) până la atingerea valorii erorii totale admise, TE_a .

Diagrama de decizie se va trasa pe baza inecuațiilor (2.22), particularizând pentru colesterol total a cărui valoare admisă pentru eroarea totală este $TE_a = 10\%$, Anexa 6. La analiții la care eroarea totală admisă nu este exprimată în procente ci în unități de concentrație, pentru a se exprima în procente, se divide valoarea dată în unități de concentrație la valoarea nivelului concentrației de decizie medicală respectiv și se înmulțește cu 100. Pentru trasarea diagramei de decizie, Figura 2.11, se parcurg următorii pași:

Pasul 1. Pe axa ordonatelor se va reprezenta inexactitatea (D , biasul), în procente, de la zero până la valoarea TE_a . De exemplu, pentru colesterol cu $TE_a = 10\%$ se gradează axa ordonatelor de la zero până la 10%, din procent în procent.

Pasul 2. Pe axa absciselor se va reprezenta imprecizia, în procente, de la zero până la valoarea de $1/2 TE_a$. De exemplu, pentru colesterol cu $1/2 TE_a = 5\%$ se gradează axa absciselor de la zero până la 5%, cu creșteri de 0,5%.

Pasul 3. Se trasează în sistemul de axe, inexactitate (y) - imprecizie (x), dreapta reprezentată de prima ecuație, $D + 2 \cdot SD = TE_a$, în modul următor: se unește punctul de pe ordonată de valoare TE_a cu punctul de pe abscisă de valoare $1/2 TE_a$. În cazul acesta particular pentru colesterol se unește ordonata de valoare 10% cu abscisa de valoare 5%.

Pasul 4. Se trasează în sistemul de axe dreapta reprezentată de a doua ecuație, $D + 3 \cdot SD = TE_a$, în modul următor: se unește punctul de pe ordonată de valoare TE_a cu punctul de pe abscisă de valoare $1/3 TE_a = 0,33 TE_a$. În cazul acesta particular pentru colesterol se unește ordonata de valoare 10% cu abscisa de valoare 3,33%.

Pasul 5. Se trasează în sistemul de axe dreapta reprezentată de a treia ecuație, $D + 4 \cdot SD = TE_a$, în modul următor: se unește punctul de pe ordonată de valoare TE_a cu punctul de pe abscisă de valoare $1/4 TE_a = 0,25 TE_a$. În cazul acesta particular pentru colesterol se unește ordonata de valoare 10% cu abscisa de valoare 2,5%.

Pasul 6. Se trasează în sistemul de axe dreapta reprezentată de a patra ecuație, $D + 5 \cdot SD = TE_a$, în modul următor: se unește punctul de pe ordonată de valoare TE_a cu punctul de pe abscisă de valoare $1/5 TE_a = 0,2 TE_a$. În cazul acesta particular pentru colesterol se unește ordonata de valoare 10% cu abscisa de valoare 2%.

Pasul 7. Se trasează în sistemul de axe dreapta reprezentată de a cincea ecuație, $D + 6 \cdot SD = TE_a$, în modul următor: se unește punctul de pe ordonată de valoare TE_a cu punctul de pe abscisă de valoare $1/6 TE_a =$

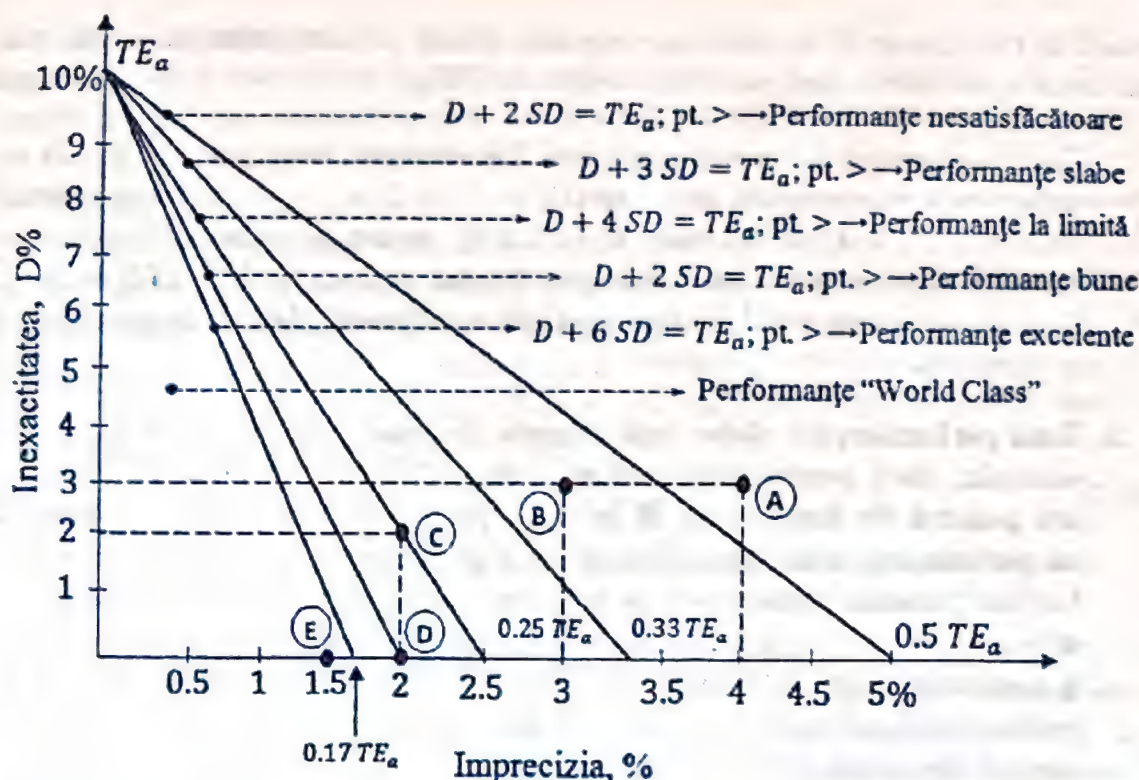


Figura 2.11 Diagrama de decizie indicând zonele de încadrare calitativă pentru o metodă analitică (particularizată pentru colesterol cu eroarea totală admisă $TE_a = 10\%$).

$0,17 TE_a$. În cazul acesta particular pentru colesterol se unește ordonata de valoare 10% cu abscisa de valoare 1,7%.

Pasul 8. Se înscrie/etichetează fiecare din cele 6 zone, prin împărțirea planului de cele cinci drepte, cu următoarele calificative: Performanțe nesatisfăcătoare, slabe, la limită, bune, excelente și clasă internațională.

Pe diagrama de decizie obținută se figurează "punctul de funcționare" al metodei, care este determinat prin cele două coordonate: valoarea obținută pentru imprecizia metodei verificate (ca abscisă) și valoarea obținută pentru inexactitatea metodei verificate (ca ordonată). Cele patru drepte, corespunzătoare celor patru limite de performanțe impuse prin relațiile (2.22) împart planul inexactitate-impresie al diagramei de decizie în cinci zone de performanță.

O dreaptă de ecuație $D + k \cdot SD = TE_a$ ($k = 2, 3, 4, 6$) împarte planul inexactitate-precizie în două regiuni. Pentru un punct de coordonate (D_i, SD_i) situat deasupra dreptei, dacă valorile acestor coordonate se introduc în ecuația dreptei rezultă $D_i + k \cdot SD_i > TE_a$, iar dacă se introduc în ecuația dreptei valorile coordonatelor unui punct situat sub dreapta rezultă inegalitatea $D_i + k \cdot SD < TE_a$; evident coordonatele unui punct situat pe dreaptă vor produce egalitatea $D_i + k \cdot SD_i = TE_a$. Analizând în această nuanță se poate vizualiza pentru fiecare

punct de funcționare al metodei dacă eroarea totală obținută este mai mare, mai mică sau egală cu valoarea erorii totale admise TE_a .

1. Zona performanțelor nesatisfăcătoare. De exemplu, dacă pentru metoda de măsurare a colesterolului se obține $CV = 4\%$ și $D = 3\%$, metoda are punctul de funcționare A , de coordonate $(4\%, 3\%)$, situat în zona performanțelor nesatisfăcătoare, adică este deasupra drepte de ecuație $D + 2SD = TE_a$. Deși o metodă cu astfel de performanță funcționează, dar nu cu performanță acceptabilă.
2. Zona performanțelor slabe, sub dreapta de ecuație $D + 2SD = TE_a$. De exemplu, dacă pentru colesterol se obține $CV = 3\%$ și $D = 3\%$, metoda are punctul de funcționare B în zona performanțelor slabe. O metodă cu performanțe slabe are calitatea de a produce rezultate dorite dacă totul funcționează perfect ceea ce impune: operatori bine instruiți (și reducerea rotației acestora), teste QC frecvente, mentenanță preventivă frecventă și continuu efort de îmbunătățire. Dar, dacă se consideră ca și criteriu de performanță metrica sigma, care să fie mai mare de 3, atunci o astfel de metodă de rutină nu este acceptată.
3. Zona performanțelor la limită, sub dreapta de ecuație $D + 3SD = TE_a$. Punctul de funcționare C pentru colesterol, de coordonate $CV = 2\%$ și $D = 2\%$, este chiar la joncțiunea între zona de performanțe la limită cu zona de performanțe bune. O metodă cu performanțe la limită necesită un control de calitate cu proceduri de control de tip reguli multiple și cu un număr de minim patru teste de control ($N=4$) pe o serie de măsurări.
4. Zona performanțelor bune, sub dreapta de ecuație $D + 4SD = TE_a$. O astfel de metodă cu performanțe bune este ușor controlabilă, pentru colesterol un punct în această zonă este punctul D de coordonate $CV = 2\%$ și $D = 0,0\%$. Pentru controlul de calitate necesită 2-4 teste de control pe seria de măsurări, o singură regulă de control cu limitele de control fixate la $\pm 2.5SD$.
5. Zona performanțelor excelente, sub dreapta $D + 5SD = TE_a$. O astfel de metodă în exploatarea de rutină necesită doar două teste de control ($N = 2$) pe seria de măsurări și o singură regulă de control cu limitele fixate la $\pm 2,5SD$ sau $3SD$.
6. Zona performanțelor de nivel internațional ("world class" performance), Six-sigma, sub dreapta de ecuație $D + 6SD = TE_a$. Punctul de funcționare E , pentru colesterol de coordonate $CV = 1,5\%$ și $D = 0,0\%$, se situează în această zonă. O astfel de metodă necesită unul sau două teste de control pe seria de măsurări, o singură regulă de control cu limitele de control fixate la $3,5SD$ sau $\pm 3SD$.

Prin utilizarea valorilor preciziei (CV, SD) și exactității D , determinate din baza de date a controlului intern pe baza diagramei de decizie, se poate evalua nivelul de calitate realizat de metodă pentru regimul stabilizat de funcționare.

• **Metrica sigma** este o altă modalitate de evaluare a nivelului de calitate pentru o metodă analitică, care ca și diagrama de decizie are ca valoare de comparație tot eroarea totală admisă, TE_a . Referirea acestei modalități de evaluare prin termenul de sigma se explică prin faptul că această metrică are ca unitate de exprimare abaterea medie experimentală, SD sau CV , care în cazul teoretic tinde spre abaterea medie teoretică, notată cu σ , relația (1.1). Expresia pentru metrica sigma este

$$\text{Metrica sigma} = \frac{TE_a - D}{SD} \quad (2.23)$$

în care: TE_a - eroarea totală admisă pentru metodă (criteriu de calitate)

D - biasul metodei

SD - abaterea standard experimentală obținută pentru metodă

Numărătorul relației (2.23) calculează cât mai rămâne din valoarea erorii totale admise, TE_a după ce se scade valoarea biasului (eroarea sistematică), deci cât mai este "rezervă/toleranță" pentru eventuală creștere a erorii sistematice de exemplu datorită unei decalibrări, Figura 2.11, iar această rezervă se exprimă prin numărul de abateri standard dacă se împarte la SD .

Când eroarea totală admisă este $TE_a = D + 3SD$, iar eroarea totală obținută este $\epsilon = D + 3SD$ (ceea ce înseamnă că pentru eroarea aleatorie se consideră un nivel de încredere de 99,7%) rezultă, conform reprezentării din Figura 2.10, că mai rămâne ca rezervă pentru o eroare tolerată de metodă o valoare egală cu zero, $(D + 3SD) - (D + 3SD) = 0$. Pentru această valoare a erorii totale admise de $TE_a = (D + 3SD)$ calculând metrica sigma, cu relația 2.23, rezultă o valoare $\text{sigma} = 3$, $(D + 3SD - D)/SD = 3$, ceea ce corespunde în diagrama de decizie, Figura 2.11, pentru o metodă analitică cu performanțe la limită. La o metodă cu metrica sigma egală cu trei, orice eventuală creștere (decalibrare), în timpul funcționării, a componentei de eroare sistematică, $\Delta\epsilon_s$, va face ca eroarea totală obținută a metodei să fie mai mare decât eroarea totală admisă, $D + 3SD + \Delta\epsilon_s > D + 3SD$, (deasupra drepte de ecuație $D + 3SD = TE_a$ din diagrama de decizie, Figura 2-11) pentru că metoda nu mai are o toleranță/rezervă la eroare. Rezultă că o metrică sigma egală cu trei caracterizează calitativ o metodă analitică cu performanțe la limită.

Performanțe de nivel world class rezultă când $\text{metrica sigma} = 6$, ceea ce înseamnă că pe lângă o valoare a erorii totale obținute $\epsilon = D + 3SD$ metoda mai permite o creștere pentru componenta sistemică a erorii (decalibrare) cu până la $3SD$ până când să ajungă să depășească valoarea, $(D + 3SD + 3D)$, a erorii totale admise, rezultă $\text{metrica sigma} [(D + 3SD + 3D) - D]/SD = 6$ (corespunde unui punct de funcționare sub sau pe dreapta de ecuație $D + 6SD = TE_a$ din diagrama de decizie).

Evident, pentru multianalizatoarele moderne pe care se realizează o curbă de distribuție normală foarte "ascuțită" adică dispersia de măsurare, SD , este foarte mică, chiar cu fixarea criteriului de calitate foarte strâns, TE_a de valoare mică, procesul de măsurare va fi caracterizat printr-o valoare ridicată pentru metrica sigma, relația 2.23, iar clasa metodei va fi excelentă sau "world class".

Exemplul 2.6 Pentru o metodă de determinare a colesterolului, cu valorile: imprecizia $CV = 3\%$ și inexactitatea $D = 3\%$ să se calculeze metrica sigma.

Soluție: Din Anexa 6 rezultă eroarea totală admisă pentru colesterol $TE_a = \pm 10\%$. Aplicând relația (2.23) rezultă

$$\text{Metrice sigma} = \frac{TE_a - D}{SD} = \frac{10\% - 3\%}{3\%} = 2,33$$

Valoarea metricii sigma de 2,33 clasifică această metoda de măsurare cu performanțe la limită, punctul B din Figura 2.11 (deasupra dreptei de ecuație $D + 3SD = TE_a$).

Problema care se pune pentru o metodă analitică la care s-a stabilit, din baza de date de control intern, imprecizia (SD, CV), inexactitatea (D) și pentru care s-a impus (Anexa 6) eroarea totală admisă TE_a (criteriul de calitate) să se determine valoarea erorii sistematice maxime, D_{max} , pe care o poate suporta/tolera metoda fără să iasă din criteriul de calitate impus. Acest raționament se poate realiza pe baza desenelor din Figura 2.12. În Figura 2.12-a sunt reprezentate distribuția de frecvență a procesului cu limitele de control fixate la $\bar{x} \pm 3SD$ (verticalele trasate cu linie întreruptă) și valoarea pentru eroarea totală admisă, TE_a (verticalele trasate cu linie groasă continuă), pentru un proces (stabilizat) la care componenta de eroare sistematică este nulă.

Desenul din Figura 2.12-b răspunde la întrebarea anterioară, cât de mare poate fi deplasarea suferită de proces, în timpul funcționării, încât doar 5% din numărul total de analize (una din 20, vezi Figura 2.2) să aibă eroarea totală obținută $> TE_a$. Curba de distribuție normală este trasată, spre dreapta verticală care fixează pe TE_a , până când suprafața (hașurată) din "coada" curbei, care depășește această dreaptă verticală este egală cu 5%. Din Tabelul 1.2 se citește că în cozile curbei lui Gauss sunt cuprinse suprafețe proporționale cu $9,9\%/2 \approx 5\%$ când acestea sunt în afara intervalului centrat de $(\bar{x} - 1,65\sigma, \bar{x} + 1,65\sigma)$. Rezultă că translatarea curbei distribuție normală se poate face până centrul acesteia este la o distanță de $1,65\sigma$ față de dreapta verticală TE_a , deci deci deplasarea (eroarea sistematică) maximă este $D_{max} = TE_a - 1,65\sigma$.

În Figura 2.12-c este reprezentat un caz intermediar, între cele din figura a și b, când curba de distribuție normală este afectată de o deplasare $D < D_{max}$. Pentru acest caz creșterea în continuare a erorii sistematice, $\Delta\epsilon$, până la valoarea D_{max} se poate calcula cu următoarea relație (exprimată în unități de SD):

$$\Delta\epsilon = [(TE_a - D)/SD] - 1,65 \quad (2.24-a)$$

Deoarece expresia în paranteze pătrate este expresia pentru sigma-metric, relația 2.23, din prezenta relație se pot deduce și următoarele două relații echivalente

$$\Delta\epsilon = \text{Sigma-metric} - 1,65 \quad (2.24-b)$$

sau

$$\text{Sigma-metric} = \Delta\epsilon + 1,65 \quad (2.24-c)$$

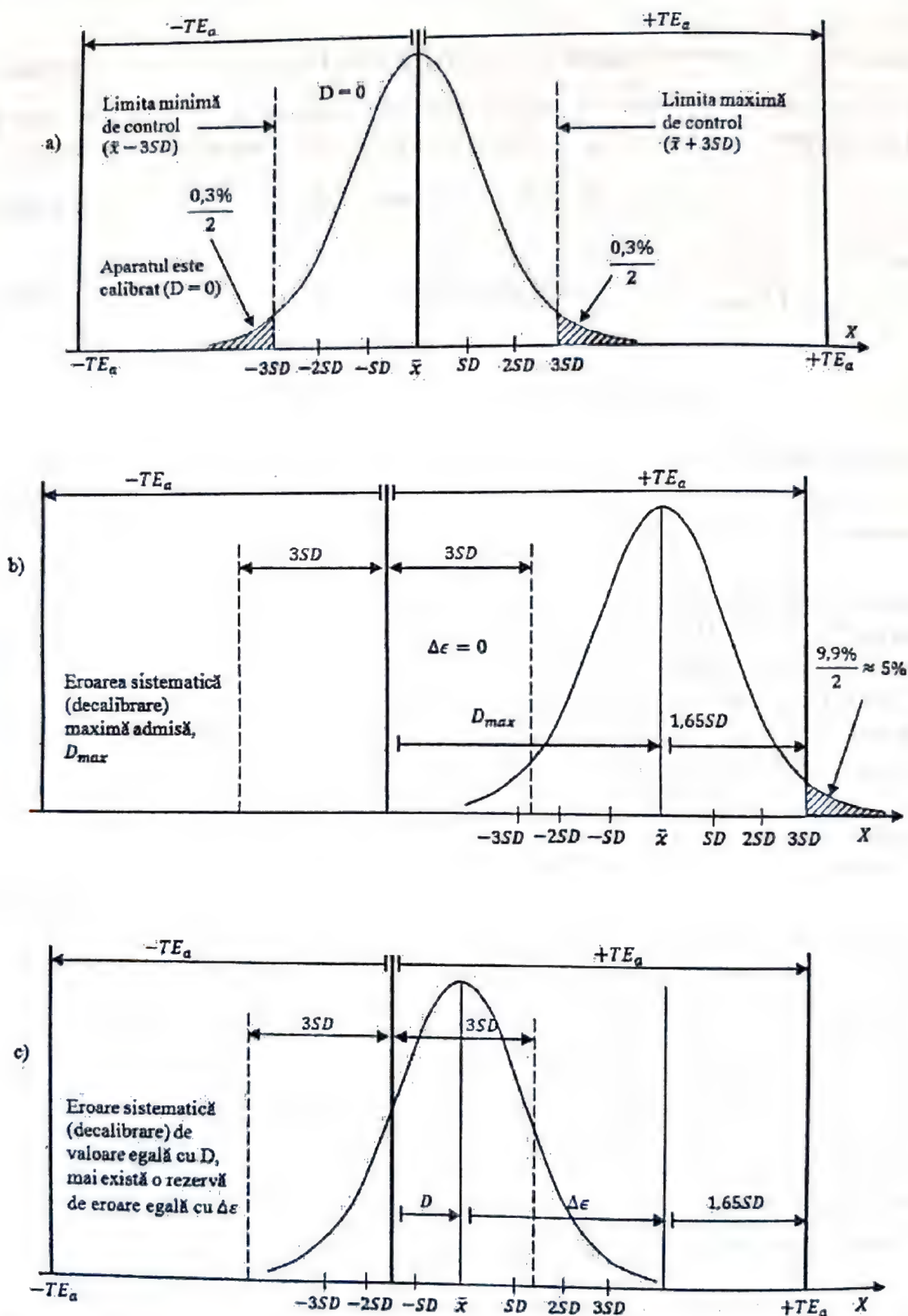


Figura 2.12 Determinarea valorii erorii sistematice critice, $\Delta\epsilon$ pentru o metodă cu eroarea totală admisă TE_a

2.5.2 Reguli de control

Prin reguli de control se înțelege alegerea și implementarea testelor pentru determinarea stării de funcționare ("sănătate") a metodei analitice. Astfel de reguli de control, pentru testarea producției de componente electrice, au fost concepute prima dată, în 1925, de către Walter A. Shewhart. Prin anii '50 aceste reguli au fost adaptate de către Levey și Jennings pentru laboratoarele medicale, care s-au materializat sub forma binecunoscutei diagrame Levey-Jennings (diagrama de control).

- Diagrama de control, desenată în partea dreaptă din Figura 2.13 este o reprezentare în funcție de timp a valorilor testelor efectuate și în care s-au fixat limitele de control superioare L_s (de exemplu, $\bar{x} + 1SD$, $\bar{x} + 2SD$, $\bar{x} + 3SD$) și limitele de control inferioare L_i (de exemplu, $\bar{x} - 1SD$, $\bar{x} - 2SD$, $\bar{x} - 3SD$). Procesul de măsurare este în afara controlului când valoarea obținută prin măsurarea de test, efectuată cu un ser de control, este în afara unei limite de control superioară sau inferioară și este sub control când valoarea obținută se situează în interiorul intervalului (L_i, L_s) . Situarea valorilor testelor în interiorul intervalului determinat de L_i , L_s reflectă o variabilitate normală, o funcționare stabilă pentru un procesul de măsurare.

O valoare de test în afara limitelor de control poate fi generată de o serie de factori: variație în valoarea serului de control, instabilitatea reactivului, variația sensibilității aparatului ("drift"), anomalii în funcționarea aparatului, modificarea condițiilor de mediu, defecte de operator etc. O astfel de valoare în afara limitei de control impune oprirea aparatului, detectarea cauzei și readucerea procesului de măsurare în limitele normale de funcționare, reevaluarea sau eliminarea/rejec-tarea probelor, tot acest proces este consumator de timp, efort și resurse.

Obținerea valorilor punctelor înscrise în diagrama de control se realizează prin testarea metodei pe o anumită durată de funcționare. Această durată de funcționare este referită în mod generic prin termenul serie de măsurări (run). Nu se specifică niciunde exact cât trebuie să fie, ca durată în timp, o serie de măsurări ci doar [22] "O serie de măsurări este un interval în care precizia și exactitatea sistemului testat se presupun că sunt stabile, dar nu mai lung de 24 de ore ...".

Într-o serie de măsurări numărul de testări efectuate, N , poate avea valori 1, 2, 3, ... chiar până la 10. Pentru $N = 2$ se testează fie un singur nivel de ser de control de două ori, fie se testează două niveluri de seruri de control (pentru două niveluri de decizie clinică, în general, un ser cu concentrația situată în domeniul de referință iar celălalt în domeniul concentrațiilor ridicate) fiecare o singură dată. Pentru $N = 3$ se testează un ser de control de trei ori sau, mai indicat, se testează trei niveluri de seruri (pentru nivelurile jos, mediu și ridicat) fiecare o singură dată. Patru teste, $N = 4$, se pot obține prin testarea a două niveluri de seruri, fiecare de două ori, prin testarea unui singur nivel de ser de patru ori, sau prin testarea a patru seruri de control, fiecare o singură dată.

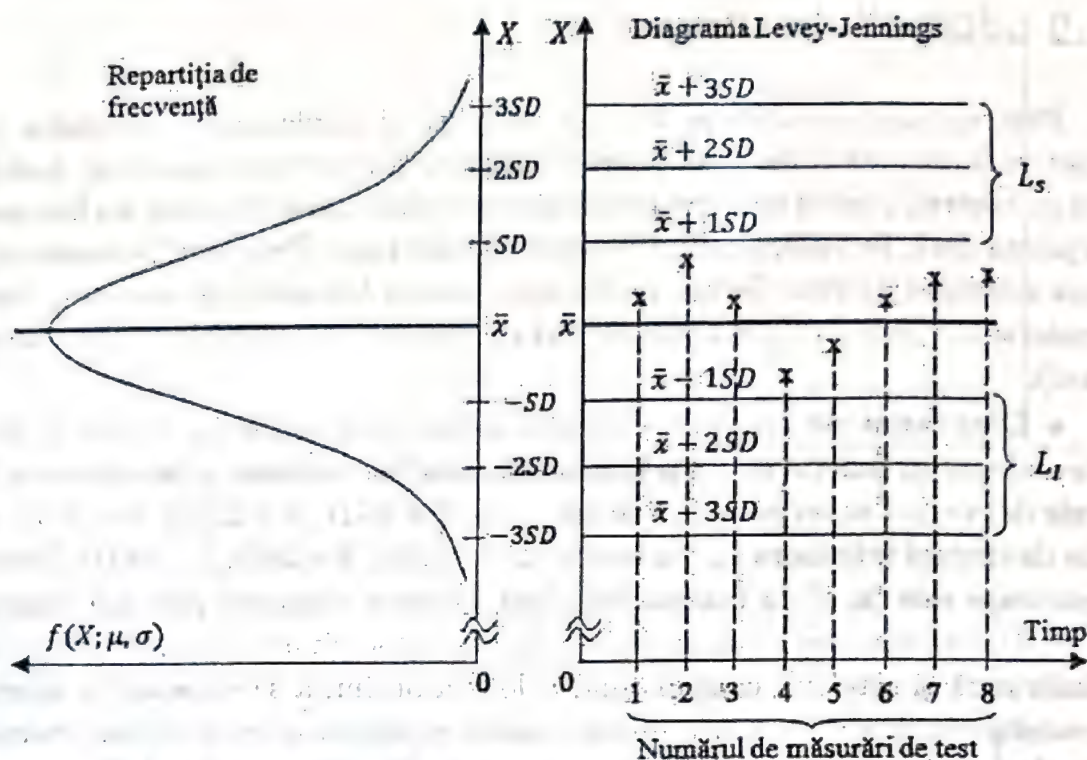


Figura 2.13 Diagrama de control/Levey Jenning (partea dreaptă) și reprezentarea repartiției de frecvență (partea stângă pentru un proces de măsurare)

Alăturat diagramei de control din Figura 2.13, în partea stângă, pentru o mai bună înțelegere a variabilității procesului de măsurare, este reprezentată distribuția de frecvență a procesului de măsurare. Prin această alăturare se sugerează modul de fixare a limitelor de control, care, în general, sunt multipli de deviație standard $\pm 2SD$, $\pm 2,5SD$, $\pm 3SD$, $\pm 3,5SD$, Regula de control, de exemplu cu limitele fixate la $\pm 3SD$, care la o testare indică faptul că procesul a depășit una din limite, se simbolizează prin notația 1_{3s} , alte notații în acest sens pot fi: $1_{2,5s}$; $1_{3,5s}$ (care corespund pentru fixarea limitelor de control la $\pm 2,5SD$, $\pm 3,5SD$). Alegerea limitelor de control este o decizie de cea mai mare importanță pentru QC. Prin această alegere sunt puternic influențați doi parametri care reflectă calitatea controlului: probabilitatea de rejectare falsă și probabilitatea de detectare a erorilor.

- Probabilitatea de rejectare falsă, P_{fr} , se definește ca fiind probabilitatea ca o serie de măsurări să fie rejectată când nu există nici o eroare, în afară de imprecizia inerentă metodei de măsurare testată, ideal $P_{fr} = 0,00$. Imprecizia inerentă se referă la imprecizia sau eroarea aleatorie a procesului de măsurare în funcționare stabilă, adică imprecizia când metoda funcționează corect. În funcționarea stabilă nu există eroare sistematică ci doar eroare aleatorie inerentă. Valoarea pentru probabilitatea de rejectie falsă (alarmă falsă, fals pozitiv) este egală cu suprafața cozilor curbei de distribuție normală situate în exteriorul

valorilor limitelor de control. Pentru limite de control $\pm 3SD$, în Figura 2.12-a corespund suprafețele hașurate, pentru care din Tabelul 1.2 rezultă $P_{fr} = 0,3\%$, adică o rejectare falsă dintr-un număr de 333 teste, vezi Figura 2.2 (ceea ce, pentru un test pe zi pe seria de măsurări, ar reveni la o dată pe an). Chiar cu creșterea numărului de teste efectuate pe seria de măsurări până la $N = 4$ valoarea pentru P_{fr} se menține sub 1%.

Pentru limite de control fixate la $\pm 2SD$, cu $N = 1$, valoarea probabilității de rejectare falsă este de 5%, corespunde suprafețelor din cozile curbei de distribuție normală situate în afara acestor limite de control (adică o rejectare falsă, 1_{2s} , dintr-un număr de 20 teste). Mărind numărul de teste efectuate pe seria de măsurări rezultă o creștere a probabilității de rejectare falsă în felul următor: pentru $N = 2 \rightarrow P_{fr} = 9\%$, pentru $N = 3 \rightarrow P_{fr} = 14\%$, pentru $N = 4 \rightarrow P_{fr} = 18\%$. Această creștere a probabilității de rejectare falsă este un argument pentru evitarea fixării limitelor de control la $\pm 2SD$, în consecință pentru limite de control se recomandă valori mai mari, de exemplu: $\pm 2,5SD$, $\pm 3SD$, $\pm 3,5SD$. Când se realizează o depășire/încălcare a regulei 1_{3s} , pentru care probabilitatea de rejectare falsă este sub 1%, deci se efectuează rejectarea seriei de măsurări, nu în același mod se procedează când se testează 1_{2s} , în acest caz, rațional, trebuie să se repete testul de control deoarece s-ar putea să fi fost o alarmă falsă.

• **Probabilitatea de detectare a erorilor, P_{ed} ,** se definește ca fiind probabilitatea ca o serie de măsurări să fie rejectată atunci când există o eroare sistematică în afară de imprecizia inerentă (variabilitatea) a metodei de măsurare testate, ideal $P_{ed} = 1,00$ (alarmă pozitivă).

Se va exemplifica determinarea probabilității de detectare a erorilor, P_{ed} , pentru o metodă analitică cu metrica sigma = 6 (admite o rezervă de eroare de $3SD$ până să depășească eroarea totală admisă TE_a , ceea ce este echivalent cu o eroare totală $TE_a = \pm 6SD$), calculul este similar și pentru o metodă cu sigma metric diferită de șase. În Figura 2.14 distribuția normală pentru această metodă este reprezentată prin linie întreruptă, limitele de control sunt fixate la $\pm 3SD$ (verticalele cu linie întreruptă), iar criteriul de performanță, $TE_a = \pm 6SD$, este reprezentat prin verticalele cu linie continuă îngroșată la distanțe $\pm 6SD$ față de valoarea medie \bar{x} . Când metoda este afectată de o eroare sistematică apărută în timpul funcționării, egală cu $D_{max} = 4,35SD$, caracteristica de distribuție normală, reprezentată cu linie continuă, este translatată spre dreapta (această poziționare este similară ca în Figura 2.12-b, unde s-a arătat că din numărul total al măsurărilor sunt afectate de o eroare $\geq TE_a = \pm 6SD$ doar 5%). Probabilitatea de detectare a erorii sistematice de valoare $4,35SD$ este egală cu suprafața (hașurată) de sub curba deplasată a distribuției normale, situată în dreapta limitei de control $+3SD$. Coada curbei de distribuție, rămasă în stânga suprafeței hașurate, este la distanța de $1,35SD$ față de centru, deci corespunde unei probabilități egale cu $0,1717 : 2 = 0,0858$ (vezi Tabelul 1.2), în consecință probabilitatea de detectare a erorii sistematice, $D_{max} = 4,35SD$, este egală cu suprafața hașurată, adică $1 - 0,0858 = 0,9142$, rezultă $P_{ed} \approx 91\%$.

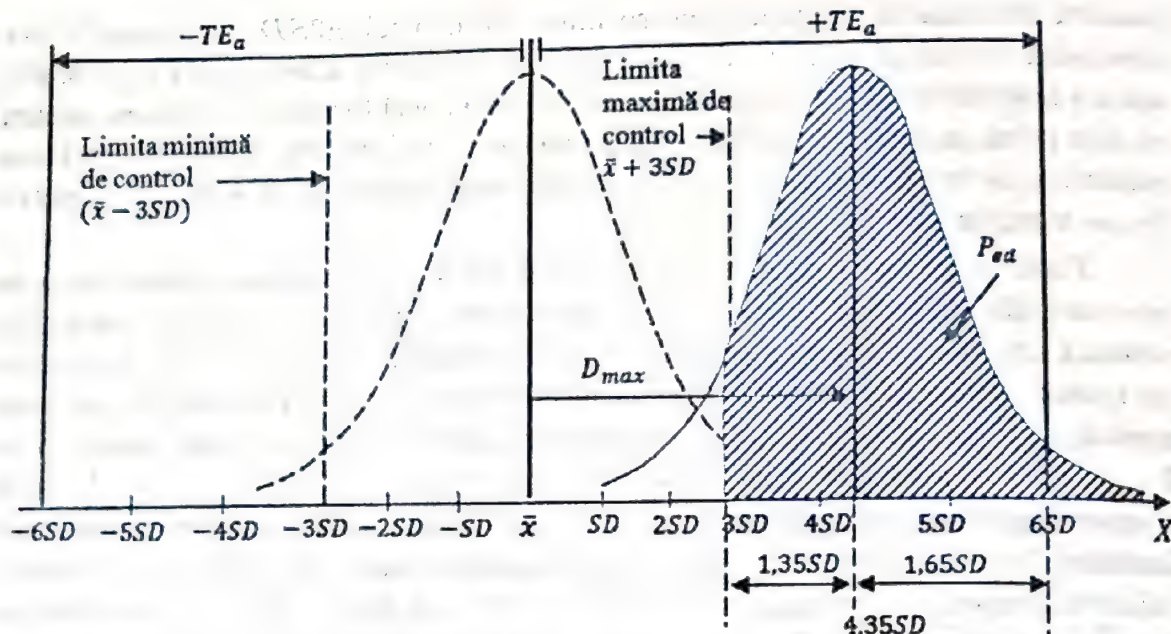


Figura 2.14 Determinarea probabilității de detectare, P_{ed} , pentru o metodă cu metrica $\sigma = 6$ și limitele de control $\pm 3SD$

Grafic, se poate evidenția, dacă limita de control, în acest caz egală cu $+3SD$, se mărește (deplasare spre dreapta) suprafața hășurată de sub curba de distribuție se micșorează deci P_{ed} scade, iar dacă limita de control se micșorează (deplasare spre stânga) suprafața hășurată de sub curba de distribuție se mărește deci P_{ed} crește. Se poate concluziona că mărirea limitelor de control reduce probabilitatea de detectare a unei erori sistematice pe când micșorarea limitelor de control mărește probabilitatea de detectare a erorii sistematice.

De asemenea se poate analiza variația probabilității de detectare a erorii, P_{ed} , când limitele de control rămân fixe (în acest caz la $\pm 3SD$), la modificarea erorii sistematice. La micșorarea erorii sistematice, deplasarea spre stânga a curbei de repartiție normală reprezentată cu linie continuă, face ca suprafața hășurată să se micșoreze, deci probabilitatea de detectare a erorilor scade pe măsură ce erorile sistematice devin mai mici. Invers, dacă erorile sistematice devin mai mari, curba distribuției normale se deplasează spre dreapta, suprafața hășurată devine mai mare, deci P_{ed} crește.

Dependența, analizată până acum, între valoarea probabilității de detectare a erorilor, P_{ed} , și modificarea erorii sistematice este exprimată și în graficul funcției putere reprezentat în Figura 2.15 (pentru $N=2$ și diferite limite de control). În acest grafic, pe axa ordonatelor este reprezentată probabilitatea de rejectare P (atât pentru rejectările adevărate, P_{ed} , cât și pentru cele false, P_{fr}), iar pe axa absciselor este reprezentată eroarea sistematică, ES (exprimată în unități de SD). În partea superioară a graficului, în sensul axei absciselor este reprezentată de asemenea și o altă scară, scara sigma. Valorile reprezentate pentru sigma metric,

pe scara sigma, se obțin din valorile erorii sistematice la care se adună 1,65, după cum rezultă din relația (2.24-c), deci zero de pe abscisa corespunzătoare erorii sistematice devine 1,65 pe abscisa scării sigma. În partea dreaptă a graficului, în tabel, pentru fiecare din curbele de funcții putere, a, b, c, d, e și f sunt specificate: regula de control, P_{fr} , P_{ed} , N și R (numărul de serii de măsurări din care se culeg cele N date de test pentru analiză).

Din graficul funcțiilor putere, valoarea ordonatei punctului de intersecție dintre axa ordonatei (intercept) și o curbă de putere este egală cu probabilitatea de rejectare falsă, P_{fr} , corespunzătoare acelei curbe (eroarea sistematică este egală cu zero, corespunde valorii 0 pe axa absciselor). Se observă că pentru: $1_{2s} \rightarrow P_{fr} = 9\%$; $1_{2,5s} \rightarrow P_{fr} = 3\%$; $1_{3s}, 1_{3,5s}, 1_{4s}, 1_{5s} \rightarrow P_{fr} = 0\%$. O eroare sistematică, de

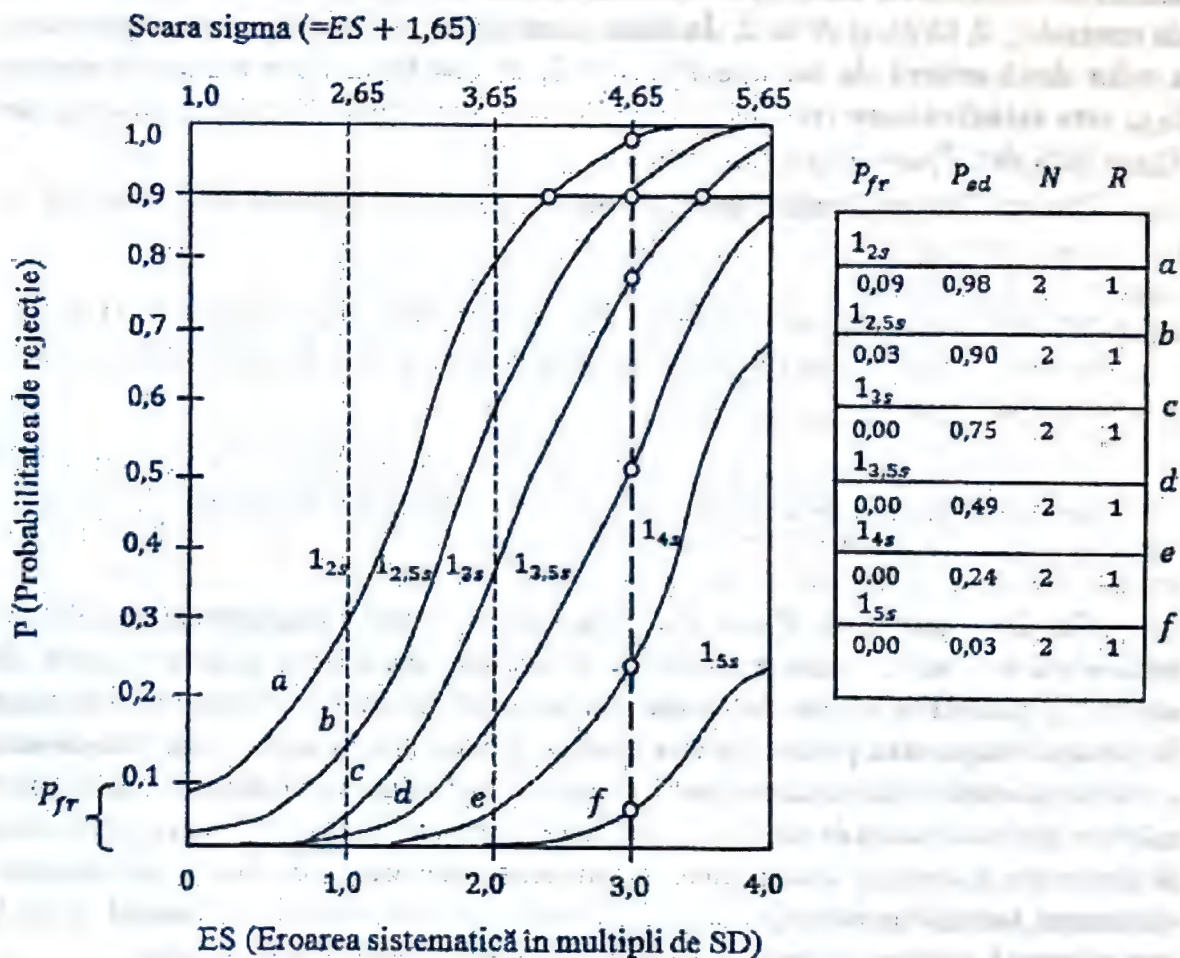


Figura 2.15 Graficul funcțiilor putere pentru regulile de control specificate în tabelul alăturat

valoare egală cu $3SD$, care afectează funcționarea procesului de măsurare este detectată (ordonatele punctelor de intersecție dintre curbele funcțiilor putere și verticală cu linie întreruptă îngroșată figurată la abscisa egală cu 3) cu următoarele valori de probabilitate: $1_{2s} \rightarrow P_{ed} = 98\%$; $1_{2,5s} \rightarrow P_{ed} = 90\%$; $1_{3s} \rightarrow P_{ed} = 75\%$; $1_{3,5s} \rightarrow P_{ed} = 49\%$; $1_{4s} \rightarrow P_{ed} = 24\%$; $1_{5s} \rightarrow P_{ed} = 3\%$. Erorile sistematice, ES ,

dacă sunt importante din punct de vedere medical, pentru a fi detectabile cu o probabilitate de 90% (abscisele punctelor de intersecție dintre funcțiile putere cu dreapta orizontală dusă la valoarea de probabilitate de 90%) trebuie să fie cel puțin egale cu (sau mai mari): $2,5SD$ pentru 1_{2s} ; $3SD$ pentru $1_{2,5s}$; $3,5SD$ pentru 1_{3s} .

Un criteriu practic, pentru calitatea procesului de măsurare, se poate stabili prin detectarea cu o probabilitate de 90% a unei erori sistematice importante din punct de vedere medical. De exemplu, dacă se impune ca o eroarea medicală egală cu de trei ori deviația standard $3SD$ să fie detectabilă, atunci din analiza anterioară rezultă că numai regulile de control 1_{2s} și $1_{2,5s}$ (cu $N = 2$) pot îndeplini acest criteriu. De asemenea, dacă pe lângă detectarea cu o probabilitate de 90%, se impune criteriu ca probabilitatea de rejectare falsă să fie sub 5%, de dorit sub 1%, atunci se constată că acesta este realizat numai de regulile de control cu limitele de control $\geq 2,5SD$, și $N = 2$. În final, rezultă că pentru îndeplinirea simultană a celor două criterii de calitate $P_{fr} < 5\%$, $P_{ed} = 90\%$, doar regula de control $1_{2,5s}$ este satisfăcătoare (regula 1_{3s} are $P_{fr} = 0$, dar $P_{ed} = 75\%$, iar regula 1_{2s} are $P_{ed} = 98\%$ dar $P_{fr} = 9\%$).

Din analiza graficului funcțiilor putere, pentru o metodă de măsurare, se poate concluziona:

- probabilitatea de rejectare falsă, P_{fr} , se îmbunătățește (scade) cu creșterea valorii limitei de control (și cu micșorarea numărului de testări (N) pe seria de măsurări).
- probabilitatea de detectare a erorilor, P_{ed} , se îmbunătățește (crește) cu scăderea valorii limitei de control (și cu mărirea numărului de testări (N) pe seria de măsurări).

Cei doi parametri, P_{fr} și P_{ed} , prin care se reflectă calitatea procesului de testare au sensuri de variație contrară la aceleași modificări pentru limitele de control și pentru numărul de testări pe seria de măsurări. Creșterea limitelor de control micșorează probabilitatea alarmelor false (recomandat) dar micșorează detectarea erorilor sistematice (nerecomandat), iar micșorarea limitelor de control mărește probabilitatea de alarme false (nedorit) în schimb mărește și probabilitatea de detectare a erorilor sistematice, a alarmelor adevărate (de dorit). În general, efectuarea testelor pentru QC cu o singură regulă de control, excluzând $\pm 2SD$, este adecvată pentru automatele perfecționate de chimie și hematologie.

• **Stabilirea limitelor de control** Limitele de control trebuie să caracterizeze corect variabilitatea procesului de măsurare testat, ceea ce impune ca valoarea medie, \bar{x} , și deviația standard, SD , trebuie să reflecte regimul stabilizat de funcționare al metodei de măsurare (funcționare stabilă) în condițiile specifice laboratorului. Valorile acestor limite (respectiv procedurile QC), care sunt multipli de SD , trebuie selectate încât să minimizeze probabilitatea de alarme false și să maximizeze probabilitatea de alarme adevărate. În consecință, o testare corectă impune o determinare corectă a valorilor \bar{x} și SD ale metodei respective.

Dacă limitele de control în diagrama Levey-Jennings (partea dreaptă din Figura 2.13) se stabilesc corelat cu distribuția normală de probabilitate a procesului de măsurare (partea stângă din Figura 2.13) adică multiplide SD , atunci testele de control compară starea de funcționare a procesului cu starea (variabilitatea) de funcționare stabilă. Dacă în diagrama Levey-Jennings se stabilesc într-un alt mod limitele de control, atunci prin testare se verifică o stare de funcționare a procesului de măsurare, dar care nu este corelată cu starea de funcționare stabilă. Uzual, pentru a se realiza o astfel de corelare limitele de control se stabilesc, în funcție de parametrii regimului stabilizat \bar{x} și SD , sub forma $\bar{x} \pm k \cdot SD$.

Determinarea corectă a valorii deviației standard impune ca materialul de control să nu influențeze, prin variabilitatea sa, variabilitatea procesului de măsurare, adică să aibă o valoare constantă/stabilă în timp și de la sticlă la sticlă. Pentru testele de chimie materialele de control au o valabilitate de 1-2 ani, pentru testele de hematologie materialele de control sunt stabile pe o perioadă de câteva luni.

Valoarea deviației standard, proprie procesului de măsurare, se determină în laborator prin măsurări repetate totdeauna când un nou ser de control se va utiliza, fie în cazul unei metode care este deja în funcțiune (dar se face o schimbare de lot pentru serul control), fie în cazul când se introduce o nouă metodă. În primul caz se poate testa în paralel cu serul din lotul vechi și serul din lotul nou, în al doilea caz pentru pornire se folosesc, doar provizoriu, datele de catalog ale serului. Oricum, determinarea valorii deviației standard se face cumulativ. Se pornește cu 20 de măsurări, care pot fi obținute intensiv, de exemplu pe durata a cinci zile, și se calculează o valoare provizorie pentru SD . Apoi, prin acumularea datelor în urma testelor după anumite intervale de timp, pentru toate datele acumulate de la început până în acel moment, se recalculează noile valori de lucru pentru SD ; pentru calculul efectuat cu 100 de date colectate se poate considera o valoare potrivită pentru deviația standard (în intervalul de timp de acumulare de date nu sunt luate în considerare valorile testelor situate în afara limitelor de control, care indică faptul că metoda nu a fost sub control). O deviație standard calculată cu minim 20 de date poate să difere față de valoarea adevărată cu până la 30%, calculată chiar și cu 100 de date diferența poate fi de până la 10%.

Utilizarea valorilor din prospectul serului de control poate fi, în general, o practică incorectă (care poate fi folosită doar la început până la adunarea/acumularea datelor necesare calculului unei valori proprii a deviației standard pentru procesul respectiv de măsurare). Valorile pentru serul de control sunt date de producători, în general, prea mari, acestea reflectând variațiile din mai multe laboratoare diferite; o valoare prea mare pentru deviația standard duce la micșorarea numărului de alarme false (de dorit), dar în același timp reduce capacitatea de detectare a erorilor (nu este dorit). De exemplu, se consideră o metodă pentru determinarea potasiului care la nivelul de 5mmol/L prezintă o deviație standard de $SD = 0,1\text{mmol/L}$, deci $CV = 2\%$, iar producătorul serului de control prescrie pentru serul de control limitele de $\pm 0,5\text{mmol/L}$, adică un interval 4,5 – 5,5mmol/L.

Aceste limite ale producătorului de ser sunt de cinci ori mai mari decât deviația standard proprie a procesului ($0,5 : 0,1 = 5$), iar prin aplicarea lor regula de control este de fapt 15σ (utilizatorul crezând, probabil, că este $12,5\sigma$ sau 13σ) o valoare mult prea mare care reduce alarmele false, dar reduce simultan și capacitatea metodei de detectare a erorilor. De asemenea, utilizarea pentru valoarea medie și deviația standard ale procesului testat de valori care sunt luate de la unele procese de intercomparare, aceste pot să nu fie corecte dacă nu sunt egale cu cele proprii ale procesului testat din laborator. În concluzie, valorile pentru \bar{x} și SD utilizate pentru fixarea limitelor de control $\bar{x} \pm k \cdot SD$ trebuie să fie determinate pe metoda de testat pentru a exprima corect variabilitatea proprie a procesului de măsurare, alte valori pot fi utilizate doar temporar până se acumulează date suficiente pentru calcul.

- Numărul, frecvența și poziționarea testelor pentru o serie de măsurări. Pentru acești parametri QC (numărul, frecvența și poziționarea testelor, seria de măsurări) informațiile disponibile în literatură sunt foarte difuze, practic selectarea lor se bazează foarte mult pe experiența laboratorului.

Lungimea în timp ce corespunde unei serii de măsurare o estimează laboratorul pe baza: stabilității procesului de măsurare, numărul (tipic) al probelor de măsurat, fluxul de lucru din laborator, operator, costul reanalizării probelor în caz de încălcare a limitei de control și de impactul clinic în cazul existenței unei erori nedectate pentru un interval de timp înaintea următorului test. Stabilitatea analitului în probele de pacient trebuie de asemenea să fie luată în considerare pentru ca în cazul identificării funcționării în afara controlului (depășire limită, de exemplu, 13σ) probele să poată fi reanalizate. O serie de măsurări poate fi efectuată în unul din următoarele două moduri: operare pe loturi și operare continuă.

Numărul, frecvența și poziționarea testelor în cadrul unei serii de măsurări are o influență majoră asupra costului și asupra apariției cazurilor de funcționare în afara controlului, totodată trebuie respectat principiul că: rezultatele testelor QC se evaluează înainte de raportarea rezultatelor. Modul potrivit de răspuns la apariția unei stări de funcționare în afara controlului constă în: detectarea cauzei perturbatoare din procedura de măsurare, aplicarea corecției necesare și apoi verificarea corectitudinii corecției efectuate prin testarea unui material de control. Dacă rezultatul acestor operații de readucere la funcționare normală a fost cu succes, atunci toate rezultatele efectuate de la ultimul test de control trebuie să fie reevaluate din perspectiva influenței erorii asupra interpretării clinice, măsurările care influențează semnificativ interpretarea clinică trebuie să fie repetate prin utilizarea probelor păstrate.

În concluzie, după [22]:

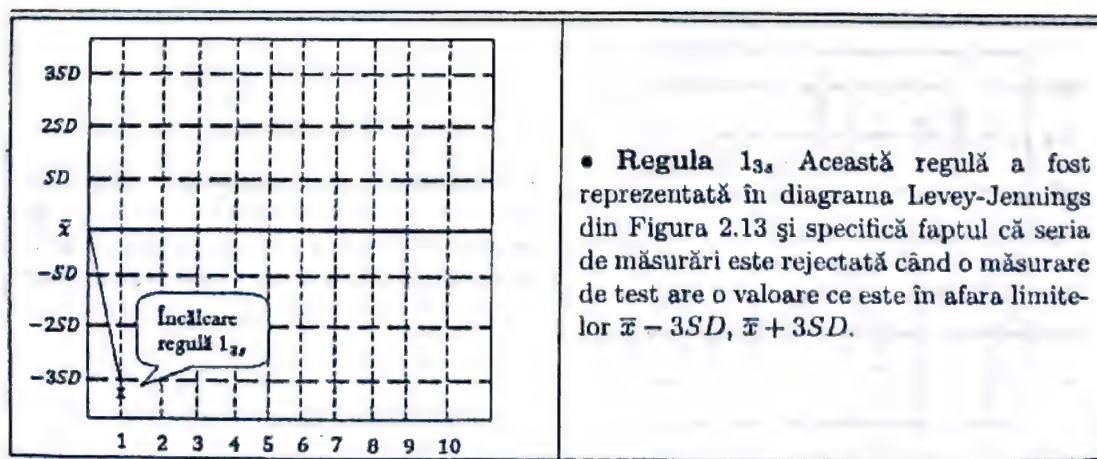
- pentru analize pe loturi testarea poate fi localizată la începutul și la sfârșitul, dar pot fi teste uniform sau aleatoriu distribuite în acest interval;

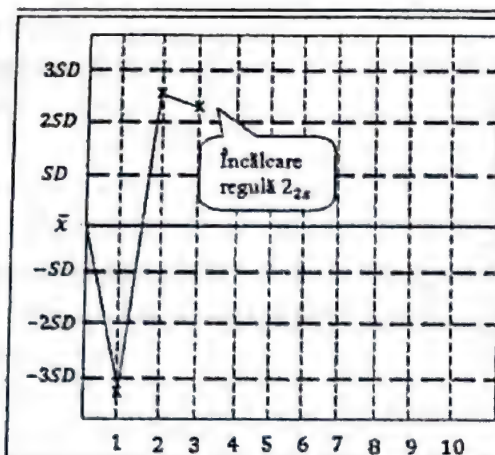
- pentru funcționare continuă se analizează două niveluri, la început pentru a detecta dacă funcționarea este în limite, apoi testul pentru un nivel în mijloc și testul pentru celălalt nivel la sfârșit.

Alegerea exactă a acestor parametrii pentru controlul de calitate (durata unei serii de măsurări, numărul, frecvența și plasarea testelor într-o serie de măsurări) și apoi implementarea acestora într-un proces de măsurare trebuie să se bazeze mult pe experiența proprie a laboratorului.

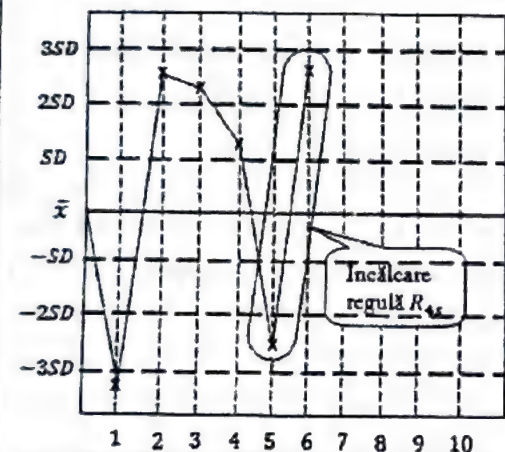
2.5.3 Reguli multiple de control

Regulile multiple (multireguli) de control au fost introduse de Westgard, de unde referirea lor ca regulile Westgard. Prin aplicarea regulilor simple, $1_{2.5s}$, 1_{3s} , $1_{3.5s}$ și a unei valori pentru N , este destul de dificil să obțină simultan atât un număr minim de alarme false/rejectări false (ideal $P_{fr} = 0$) cât și o probabilitate mare de detectare a erorilor/alarmă adevărate (ideal $P_{ed} = 1$). Crescând valorile limitelor de control scad rejectările false dar scad și rejectările adevărate, iar prin scăderea limitelor de control crește probabilitatea de detectare a erorilor importante din punct de vedere clinic dar crește și numărul rejectărilor false. Totuși, o optimizare simultană se poate obține dacă se combină mai multe reguli simple - obținându-se o regulă multiplă - care poate realiza condițiile $P_{fr} \rightarrow 0$, $P_{ed} \rightarrow 1$. Pentru compunerea unei reguli multiple se pot selecta unele din următoarele 5 reguli simple prezentate în continuare:

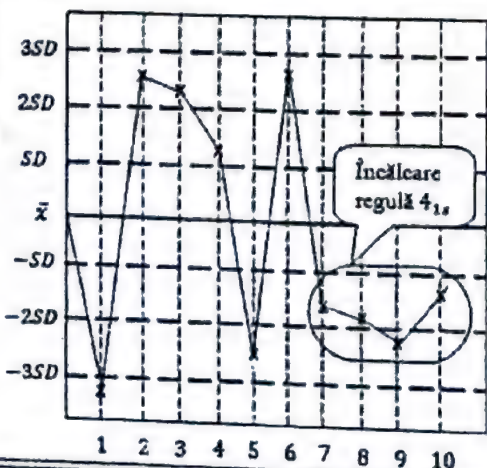




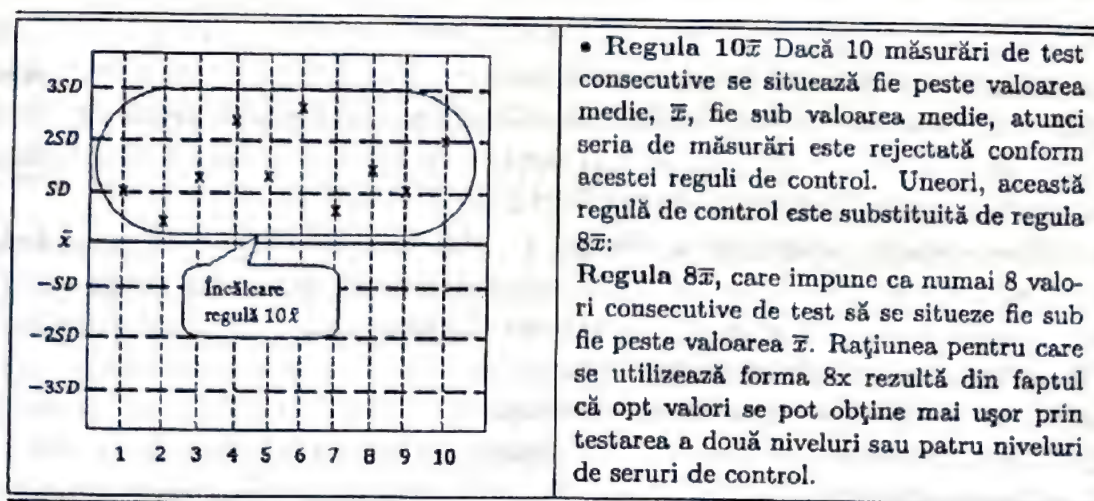
- **Regula 2s.** Această regulă specifică faptul că seria de măsurări este rejectată când două măsurări de test consecutive au valori ce se situează fie peste limita $\bar{x} + 2SD$, fie sub limita $\bar{x} - 2SD$.



- **Regula R4s.** Această regulă specifică faptul că seria de măsurări este rejectată când, într-un grup, valoarea unui test depășește limita $\bar{x} + 2SD$, iar celălalt test este sub limita $\bar{x} - 2SD$ (o distanță de $4s$ între valorile testelor).



- **Regula 4s.** Rejectarea seriei de măsurări, conform acestei reguli, se efectuează când patru măsurări de test consecutive au valori ce se situează fie peste limita $\bar{x} + 1SD$, fie sub limita $\bar{x} - 1SD$.



Aceste reguli de control prezentate sunt potrivite pentru cazurile când sunt testate două niveluri de seruri de control. Pentru cazurile când sunt testate trei niveluri există un alt set de reguli simple de control.

Se mai utilizează și Regula 1_{2s} , reprezentată în diagrama de control din Figura 2.13, dar aceasta în special pentru atenționare. Încălcarea condiției 1_{2s} nu se va utiliza pentru rejectarea seriei de măsurări (la 2.5.2, s-a specificat de ce această regulă nu este recomandată pentru control) ci doar pentru a atenționa urmărirea dacă în următoarele date de test obținute se încalcă una din celelalte cinci reguli expuse mai sus.

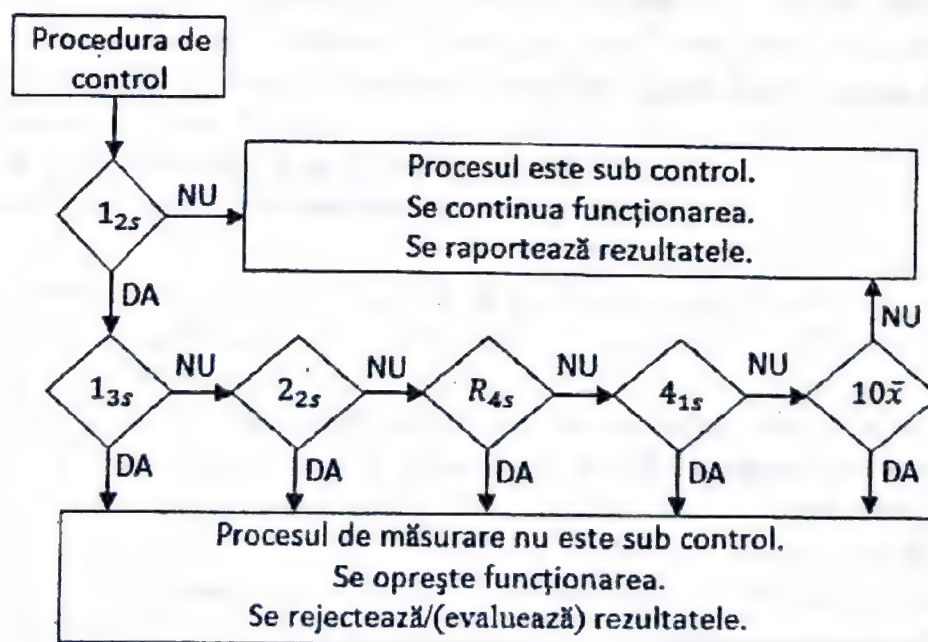


Figura 2.16 Diagrama/Organigrama Westgard de control

Pentru identificarea dacă metoda de măsurare este sub sau în afara controlului se utilizează dagrama Levey-Jennings, în care este utilizat un singur criteriu

de decizie, care este o limită de control $\pm k \cdot SD$ (o singură măsurare de test). În cazul identificării stării de funcționare a unei metodei de măsurare pe baza unor reguli multiple atunci pentru decizie sunt utilizate o combinație de reguli simple de control, iar pentru modul de aplicare al acestora în locul diagramei Levey-Jenning se utilizează diagrama (organigrama) Westgard, Figura 2.16.

Interpretarea pe diagrama Westgard a datelor culese în urma măsurărilor de test se face în modul următor. Apariția unei depășiri de tip 1_{2s} atrage atenția pentru examinarea datelor de test următoare. Dacă se constată o încălcare a regulii 1_{3s} atunci se oprește seria de măsurări pentru că funcționarea este în afara controlului, dacă nu se urmărește în continuare încălcarea regulii 2_{2s} . Încălcarea regulii 2_{2s} generează oprirea seriei de măsurări deoarece funcționarea nu este sub control, altfel se trece la examinarea dacă s-a încălcat regula R_{4s} , care se analizează în același mod ca și regulile precedente. Toate aceste reguli, pentru care numărul de date de test poate fi $N = 1$ sau 2 , se pot interpreta cu citiri de test doar pe o singură serie de măsurări, dar pentru interpretarea următoarelor două reguli, deoarece necesită un număr mai mare de teste ($N = 4$ sau 10), se pot utiliza pentru interpretare, dacă este necesar, și date de test citite de la seria de măsurări anterioară (ceea ce se specifică prin valoarea variabilei R din tabelele atașate graficelor funcțiilor putere din Figura 2.15 și Figura 2.17). În continuare se examinează dacă există patru teste consecutive (4_{1s}) care au valori fie mai mari decât $\bar{x} + 1SD$, fie mai mici decât $\bar{x} - 1SD$ sau dacă zece teste consecutive ($10\bar{x}$) se situează fie peste valoarea medie \bar{x} fie sub valoarea medie. Funcționarea metodei de măsurare nu se oprește dacă nici una din aceste cinci condiții de decizie nu este adevărată și se oprește dacă cel puțin una din aceste condiții evaluate este adevărată.

Din aceste reguli simple se poate compune o procedură de control alegând doar anumite reguli simple; de exemplu, întâi se selectează doar acele reguli simple care prezintă un nivel scăzut de rejectări false și apoi aceste teste de control se integrează într-o singură procedură care să realizeze o probabilitate ridicată de detectare a erorilor (de exemplu $\geq 90\%$).

Aceste proceduri de control pot fi, de exemplu exprimate simbolic în felul următor: $1_{3s} / 2_{2s} / R_{4s} / 4_{1s}$; $1_{3s} / 2_{2s} / R_{4s}$; $1_{3s} / 2 \text{ of } 3_{2s} / R_{4s} / 3_{1s} / 4_{1s}$ (primele două exprimări corespund când procedurile sunt pentru testarea a două niveluri de seruri de control iar ultima pentru trei niveluri de seruri de control). Aceste proceduri exprimă faptul că seria de măsurări este în afara controlului când cel puțin o condiție de decizie testată, din cele care compun procedura, este adevărată.

Când se utilizează proceduri de control pe bază de reguli multiple? Reguli simple fiind mai ușor de implementat sunt de preferat și aceste reguli simple (de exemplu 1_{3s} , $1_{3.5s}$) pot realiza o probabilitate de rejectare falsă sub 1%, mai deficitare sunt în realizarea detectării erorilor sistematice, importante din punct de vedere medical, cu o probabilitate în jur de 90%. Decizia de alegere între o regulă simplă de control și o regulă multiplă se poate face analizând pentru procesul de

măsurare respectiv: precizia, exactitatea și impunând valorile cerute pentru P_{fr} și P_{ed} ; aceste aspecte vor fi analizate în paragraful următor.

2.5.4 Selectarea procedurii de control

Pentru selectarea procedurii de control potrivită unei metode analitice se pornește de la criteriul de calitate (intervalul de decizie clinică, eroarea totală admisă, performanțe de vârf- "state-of-the-art") și parametrii analitici (precizie și exactitate) pe baza cărora se determină procedura de control și numărul N de teste pe o serie de măsurări. De fapt, toate aceste variabile (CV , D , regulile de control, N) sunt interdependente și permit diferite combinații care asigură criteriul de calitate fixat, această interdependență este exprimată prin graficul funcțiilor putere, care a fost prezentat în Figura 2.15. Etapele pentru selectarea procedurii de control și a numărului de teste precum și succesiunea sunt:

1. Se fixează criteriul de calitate și se calculează, din baza de date de la controlul intern, deplasarea D și deviația standard SD ;
2. Se calculează metrica sigma;
3. Pentru valoarea sigma calculată, la punctul 2, se fixează punctul pe scara sigma de pe graficul funcțiilor de putere;
4. Prin punctul fixat pentru sigma se trasează o verticală, iar pentru punctele de intersecție ale acestei verticale cu funcțiile de putere se identifică valorile ordonatelor (valorile probabilităților de detectare a erorilor, P_{ed});
5. Sunt candidate pentru selectare doar curbele la care valoarea probabilității de detectare a erorilor (ordonata punctului de intersecție cu verticala trasată prin sigma metric calculat) este mai mare de 90% ($P_{ed} \geq 0,90$);
6. Apoi, pentru curbele selectate se compară valorile probabilităților de rejectare falsă, P_{fr} (interceptul/intersecția curbei funcție putere cu axa coordonatelor);
7. Dintre procedurile de control candidate se alege: cea cu probabilitatea de detectare a erorilor, P_{ed} , mai mare, cea cu probabilitate de rejectare falsă, P_{fr} , mai mică, care are cel mai mic număr de teste, N , pe seria de măsurări și cea care are cele mai simple reguli de control (toate simultan dacă este posibil).

Exemplul 2.7 Pentru o metodă de determinare a colesterolului să se aleagă procedura de control și numărul de teste necesar pe seria de măsurări.

Soluție: Se vor parcurge etapele enumerate anterior.

1. Valorile de imprecizie și inexactitate sunt respectiv egale: $SD = 2\%$, $D = 0\%$, calculate din baza de date. Criteriul de performanță se fixează prin valoarea erorii toatale admise, din Anexa 6 se citește $TE_a = \pm 10\%$.

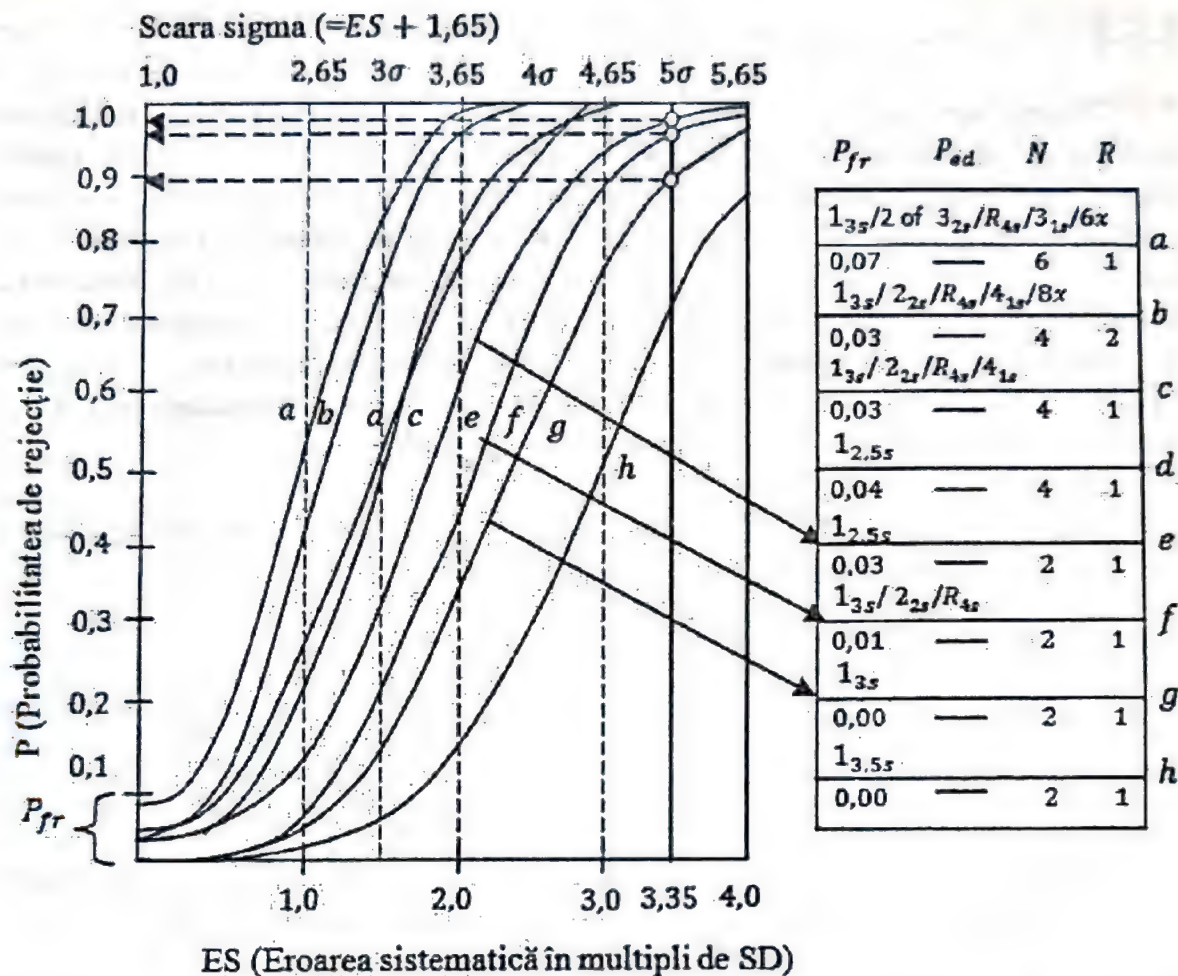


Figura 2.17 Exemplu de alegere a procedurii de control, pe baza graficului funcțiilor de putere (două niveluri de ser de control) pentru o metodă de determinare a colesterolului

2. Metrica sigma se calculează cu relația (2.23)

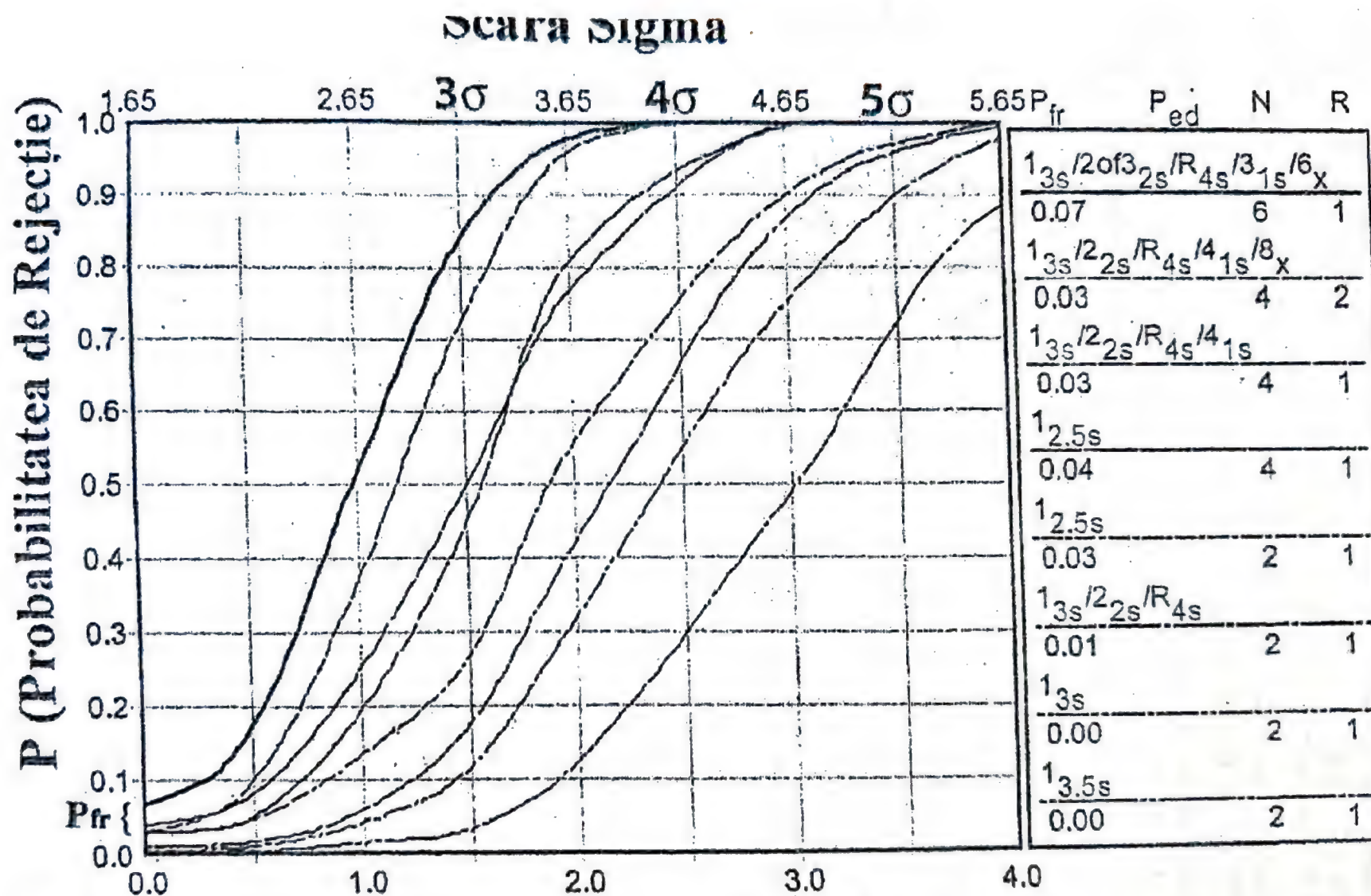
$$\text{Metrica sigma} = \frac{(TE_a - D)}{CV} = \frac{10,0\% - 0,0\%}{2,0\%} = 5$$

3. Pe graficul funcțiilor putere, (pentru două niveluri de ser de control) din Figura 2.17, se fixează punctul cu valoarea sigma = 5 pe abscisa din partea superioară a graficului (eroare sistematică, $ES = \text{Sigma metric} - 1,65 = 5 - 1,65 = 3,35$).
4. Alegând pentru metodă ca erorile sistematice $\geq 3,35SD$ să fie detectate cu o probabilitate $P_{ed} = 90\%$, atunci punctele de intersecție de interes, între dreapta verticală dusă prin sigma metric de valoare 5 și graficele funcțiilor putere, sunt numai cele care corespund procedurilor notate cu e, f și g.

5. Pentru aceste trei proceduri de control candidate corespund parametrii: (e) $1_{2.5s} \rightarrow P_{ed} = 96\%$, $P_{fr} = 3,0\%$ și $N = 2$; (f) $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s} \rightarrow P_{ed} = 94\%$, $P_{fr} = 1,0\%$ și $N = 2$; (g) $1_{3s} \rightarrow P_{ed} = 87\%$, $P_{fr} = 0,0\%$ și $N = 2$.
6. Procedura care realizează cel mai mic procent (0,0%) de rejectări false este procedura (g) dar și celelalte realizează un procent $< 5\%$.
7. Toate cele trei proceduri de control corespund pentru metodă, $P_{ed} \approx 90\%$, $P_{fr} < 5\%$, dar se alege procedura g, 1_{3s} ($P_{ed} = 87\%$, $P_{fr} = 0,0\%$ și $N = 2$) care utilizează o limită de control uzuală, $\pm 3s$, fixată în diagrama Levey-Jennings și o singură măsurare de test pentru fiecare din cele două niveluri de ser de control pe durata unei serii de măsurări.

(R - este numărul de serii de măsurări din care se culeg cele N date de test).

Pentru exerciții de selectare a unei proceduri de control, pentru metodele care utilizează două niveluri de ser de control, la sfârșitul acestui capitol este atașat un grafic cu funcțiile de putere și de asemenea un tabel pentru sistematizarea calculelor necesare. Astfel de materiale pot fi găsite și în [22] sau <http://www.westgard.com/lesson4.htm> wherepow.



ES (Eroarea sistematică exprimată în multipli de SD)

Denumire Test

Eroarea Totală, TE_a (TE_a în % sau în unități de TE_a)

Nivelul de decizie clinic testat

Imprecizia calculată, (CV în % sau în unități de SD)Inexactitatea calculată (D în % sau în unități de D)

$$\text{Sigma} = \frac{(TE_a\% - D\%)}{CV\%} - 1,65 \text{ sau}$$

$$\text{Sigma} = \frac{TE_a(\text{unități}) - D(\text{unități})}{CV\%} - 1,65$$

Procedurile candidate

Procedura selectată

Analist

Data

Comentariu



Calculation of Measurement
Uncertainty in Chemistry

15.11

Capitolul 3

ESTIMAREA INCERTITUDINII DE MĂSURARE

3.1 NOȚIUNEA DE INCERTITUDINE

Rezultatul măsurării unei probe de pacient pentru concentrația analitului X este o valoare x . Se pune întrebarea, este aceasta valoarea adevărată a concentrației de analit din proba respectivă? Deocamdată se poate da doar următorul răspuns: valoarea x este o estimatie a concentrației a analitului din probă, obținută în urma măsurării. Dar dacă aparatul de măsurare prezintă o deplasare D atunci rezultatul trebuie corectat cu valoarea $C = -D$ și se obține valoarea corectată $x_c = x + C = x - D$, iar acum se poate spune că cea mai bună estimatie obținută în urma măsurării analitului X este valoarea x_c . Dar cât de corectă este această afirmație? Rămâne, totuși, o îndoială, un dubiu privitor la cât de corect reprezintă acest rezultat corectat valoarea mărimii măsurate, această atitudine asupra validității rezultatului exprimat poate fi cuprinsă în noțiunea de incertitudine. Rezultă că *noțiunea de incertitudine, dacă este cuantificată, exprimă calitatea, gradul de încredere în rezultatul măsurării. În această viziune rezultatul unei măsurări este o estimatie pentru acel măsurand, dar acestei estimatii trebuie să i se asocieze un parametru cantitativ, adică incertitudinea.*

- Incertitudinea de măsurare este un parametru, asociat rezultatului unei măsurări, care caracterizează dispersia valorilor ce, în mod rezonabil, pot fi atribuite măsurandului.

Incetitudinea este necesară pentru a decide dacă rezultatul măsurării este adecvat scopului destinat și pentru a stabili dacă este consistent cu alte rezultate similare.

Incetitudinea de măsurare este inerentă oricărui proces de măsurare afectat de eroare. Rezultatul unei măsurări este complet numai când este însoțit de specificarea cantitativă a incetitudinii sale. Incetitudinea nu este eroare, incetitudinea și eroarea (necunoscută) sunt noțiuni diferite, incetitudinea apare ca o exprimare cantitativă a gradului de necunoaștere în procesul măsurării, este un

parametru care caracterizează dispersia valorilor atribuite măsurandului pe baza rezultatelor obținute în urma măsurărilor.

În practică, valoarea adevărată a unui măsurand este inaccesibilă, dar cu noțiunea de incertitudine de măsurare este posibil să se exprime cu o anumită probabilitate, de exemplu de 95%, pentru o lege de distribuție normală, un interval în care se situează valoarea adevărată a mărimii măsurate. În concluzie, un rezultat de laborator de analiză cantitativă nu este întradevăr complet dacă nu i se asociază valoarea incertitudinii de măsurare.

Pentru laboratoarele medicale, exprimarea incertitudinii rezultatelor măsurărilor este importantă în raport cu clienții săi (pacienți, medici) cu privire la valorile biologice de referință și a pragurile clinice/terapeutice (interpretare clinică). Standardul ISO 15189 specifică la paragraful 5.6.3. *"Laboratorul trebuie să estimeze incertitudinea rezultatelor în cazul când aceasta este pertinentă/rezonabilă și posibilă..."*. Toate componentele/sursele importante, care intră în compunerea incertitudinii, trebuie luate în considerare. Sursele care pot contribui la valoarea incertitudinii asociată unei măsurări pot fi: eșantionarea probelor, prepararea probelor, selectarea probelor, calibratorii, materialele de referință, valoarea mărimii (concentrație, cantitate) analizate, echipamentul utilizat, condițiile de măsurare, operator, prelucrarea datelor.

Din expresia, $\epsilon = x - a$, relația (2.8), rezultă că eroarea totală ϵ nu poate fi determinată deoarece nu se cunoaște valoarea a (doar o valoare convențională). Atunci, este rațional, ca în locul exprimării calității rezultatului unei măsurări printr-o eroare, să se introducă o exprimare prin care calitatea măsurării să se efectueze în funcție de o mărime care se poate măsura, iar aceasta poate fi prin valorile mărimii măsurată x , asupra cărora se poate face o prelucrare statistică. Ori, o astfel de exprimare rezultă din relația (2.8) dacă se scrie sub forma $x = a + \epsilon$ (în care mărimea măsurată x (cunoscută) are aceeași distribuție de probabilitate ca și eroarea totală, ϵ). Această trecere, de la noțiunea de eroare la valoarea mărimii măsurate, trebuie însoțită de introducerea noțiunii de incertitudine, u , care caracterizează cantitativ calitatea măsurării. *Incetitudinea, care caracterizează noțiunea de acuratețe (eroarea totală), conține pentru procesul de măsurare, atât exactitatea cât și precizia.*

Conform Figurii 2.3 valoarea mărimii măsurate x_i se compune din valoarea (convențional) adevărată (a), din deplasarea/bias-ul (D), care este cauzată de efectele sistematice (și care poate fi anulată sau adusă la o valoare aproape de zero prin etalonare/calibrare) și din eroarea aleatorie (ϵ_a) cauzată de efectele aleatorii. Dar fiecare dintre aceste componente, în estimarea sa, este afectată de o incertitudine asociată (u_1, u_2, u_3); în consecință, aceste incertitudini, propagate după o anumită lege, contribuie în calculul incertitudinii estimate totale/compuse, u_c ,

$$\begin{array}{ccc} x_i = a + D + \epsilon_a & & \\ \downarrow \downarrow \downarrow & & \\ u_1 & u_2 & u_3 \end{array} \quad (3.1)$$

3.1.1 Metode de estimare a incertitudinii de măsurare pentru metodele analitice cantitative

1. Metoda analitică, utilizează pentru estimarea valorii incertitudinii de măsurare un model matematic/(relație) pentru procesul de măsurare (secțiunea 3.2).
2. Caracteristicile (metodei), utilizează pentru estimarea valorii incertitudinii de măsurare datele din baza de date obținute prin controlul intern de calitate sau în urma procesului de validare a metodei referitoare la caracteristicile de performanță ale metodei (repetabilitate, reproductibilitate internă, liniaritate, exactitate, limite etc., vezi secțiunea 2.3).
3. Performanțele (metodei), utilizează pentru estimarea valorii incertitudinii de măsurare o abordare colectivă între laboratoare. Aceasta implică participarea mai multor laboratoare, fiecare utilizând aceeași metodă de analiză (peer-group). Incertitudinea estimată rezultată este, de asemenea, comună pentru toate laboratoarelor participante.
4. Compararea interlaboratoare, utilizează pentru estimarea valorii incertitudinii de măsurare dispersia/varianța rezultatelor individuale ale laboratorului în raport cu o valoare țintă. Determinarea valorii țintă este responsabilitatea organizatorului structurii de comparare interlaboratoare și aceasta poate fi obținută:
 - (a) fie independent de rezultatele comparării intrelaboratoare (materiale de referință, metode de referință etc.);

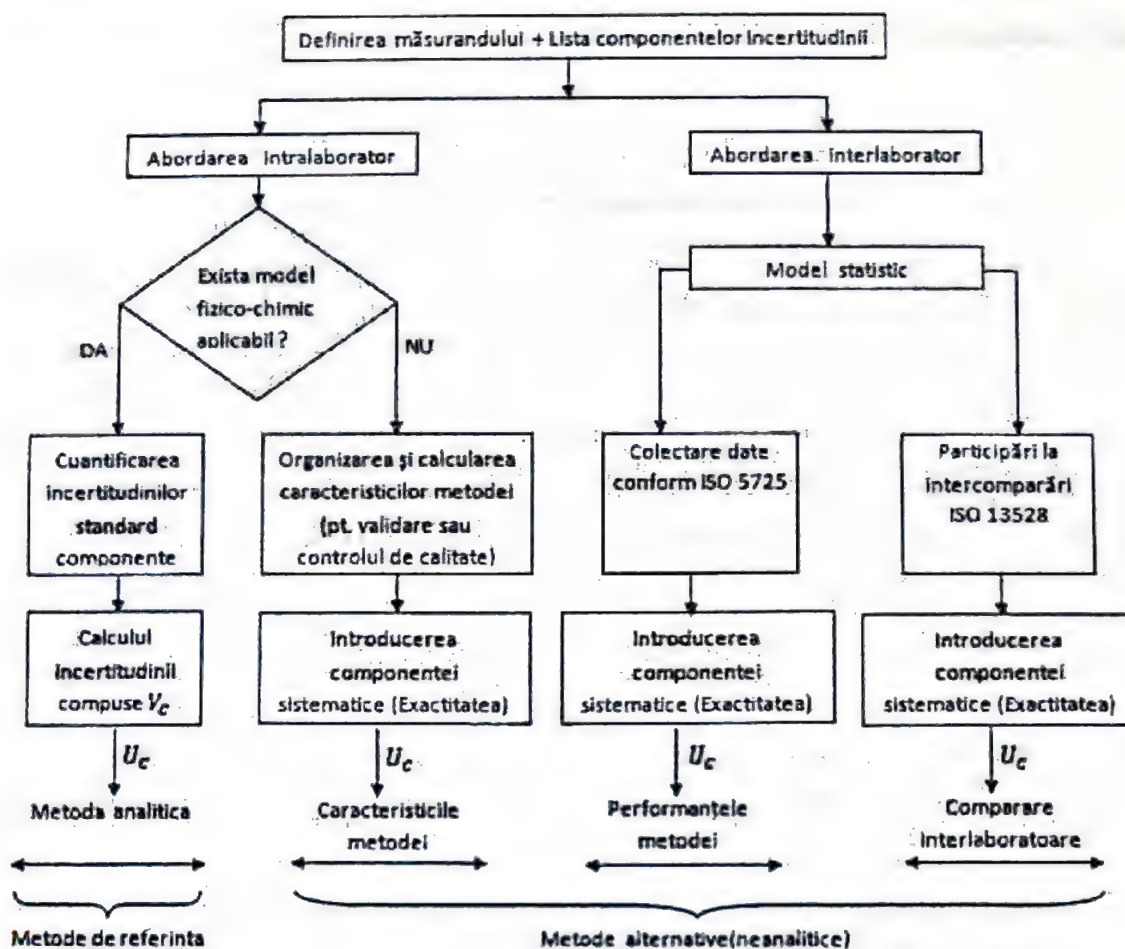


Figura 3.1 Structurarea modalităților de abordare pentru calculul incertitudinii de măsurare

- (b) fie în funcție de rezultatele comparării interlaboratoare (valoare consensuală ale tuturor laboratoarelor) sau a laboratoarelor care utilizează metode trasabile la SI.

Metodele 2, 3, 4 sunt metode neanalitice deoarece, spre deosebire de prima metodă, nu analizează separat fiecare componentă generatoare de incertitudine din incertitudinea compusă pentru procesul de măsurare. Aceste metode, fără a avea un model matematic explicit al procesului de măsurare, combină cât mai multe componente, în măsura în care este posibil, rezultând pentru incertitudinea compusă doar o componentă pentru efectele sistematice și la fel o singură componentă pentru cele aleatorii (se estimează în mare și nu pe detalii).

3.2 ESTIMAREA INCERTITUDINII PRIN METODA ANALITICĂ

3.2.1 Modelul matematic

În cele mai multe cazuri un măsurand Y nu este măsurat direct, ci este determinat indirect, pe baza unor mărimi X_1, X_2, \dots, X_N prin intermediul unei relații funcționale f

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N) \quad (3.2)$$

Mărimile de intrare (variabile) X_1, X_2, \dots, X_N , de care depinde mărimea de ieșire Y , pot fi privite ele însele ca măsuranzi și pot să depindă, la rândul lor, de alte mărimi, inclusiv de corecții și factori de corecție (vezi Anexa 2) pentru efecte sistematice, ceea ce conduce, astfel, la o relație funcțională complicată care, uneori, nu poate fi scrisă explicit. De asemenea, funcția f poate admite doar o determinare experimentală sau poate exista doar sub forma unui program de calculator. Din această relație funcțională se poate obține o estimare y a măsurandului Y folosind estimațiile x_1, x_2, \dots, x_N ale celor N mărimi de intrare X_1, X_2, \dots, X_N , deci estimația valorii măsurandului are exprimarea:

$$\begin{array}{ccccccc} y = f(x_1, \dots, x_2, \dots, x_N) & & & & & & \\ \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow & & & \\ u_c(y) & u(x_1) & u(x_2) & u(x_N) & & & \end{array} \quad (3.3)$$

Din relația (3.3) rezultă că estimarea incertitudinii $u_c(y)$ asociată valorii y a măsurandului Y se compune din estimațiile incertitudinilor $u(x_1), u(x_2), \dots, u(x_N)$ asociate valorilor de măsurare ale mărimilor de intrare x_1, x_2, \dots, x_N .

Practic, în determinarea incertitudinii măsurandului Y , din estimarea incertitudinilor mărimilor de intrare X_1, X_2, \dots, X_N pot apărea numeroase surse de incertitudine, care pot include:

- definiția incompletă a operandului (relația funcțională f);
- realizarea incompletă a definiției operandului;
- eșantionarea nereprezentativă, adică proba supusă măsurării poate să nu reprezinte măsurandul definit;
- eroarea observatorului/operatorului la citirea mijloacelor de măsurare analogice (paralaxă);
- rezoluție limitată a mijloacelor de măsurare sau pragul de discriminare al acestora;
- valori inexacte ale etaloanelor și materialelor de referință certificate;

- valori inexacte, ale constantelor și ale altor parametri, preluate din surse de informare externe și folosite în algoritmul de prelucrare a datelor;
- aproximațiile și presupunerile introduse în metoda și în procedura de măsurare;
- variațiile dintre observațiile repetate ale măsurandului în condiții aparent identice.

Particularizat pentru procesul de măsurare specific unui laborator medical sursele de erori, deci și de incertitudine, sunt indicate în desenul din Figura 3.2. Pentru faza preanalitică se pot enumera ca surse: prepararea pacientului, tehnica de prelevare a probelor, transportul și depozitarea probelor, prepararea eșantioanelor pentru analiză. În faza de analiză surse pot fi: incertitudinea asociată valorii calibratorului și valorile volumelor măsurate, variația loturilor de reactivi și a materialelor de calibrare, drift-ul și îmbătrânirea echipamentului, mentenanța, schimbarea operatorilor, fluctuațiile de mediu etc. Se poate constata că procesul analitic, figurat prin încercuirea pregnantă, contribuie doar parțial în estimarea incertitudinii, ponderi însemnate având și celelalte componente: faza preanalitică și cea postanalitică. Fiecare sursă de incertitudine trebuie analizată separat și, mai mult, cuantificată separat.

Standardul ISO 15189 specifică la paragraful 5.6.3. Cuantificarea incertitudinii se face sub forma de abatere standard experimentală, sau un multiplu al acesteia, *care poate fi calculată cu relația (2.2). Când incertitudinea este exprimată ca o abatere standard, aceasta este referită ca incertitudine standard.* Pentru a se ușura modalitățile de determinare a incertitudinii acestea au fost grupate în două metode de evaluare referite: de tip A și de tip B.

3.2.2 Evaluarea incertitudinii standard de tip A

Pentru unii măsuranzi se poate obține experimental un șir de n măsurări independente, iar din dispersia/varianța datelor obținute se poate calcula abatere standard experimentală conform relației (2.2). Ca măsură pentru incertitudinea $u(x)$, a unui măsurand X , a cărui distribuție este cunoscută pe baza celor n date, obținute experimental (distribuție de frecvență), se consideră abaterea standard experimentală, $s(x)$.

$$u(x) = s(x) = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^n (x_k - \bar{x})^2}{(n-1)}} \quad (3.4)$$

Pentru o metodă de măsurare bine caracterizată și aflată sub control statistic este posibil să existe deja o estimatie a abaterii standard experimentală s_p (de exemplu, pentru un comparator diferențial de lungimi prin compararea repetată a unui etalon cu un altul pentru etalonare (măsurand), în general există o abatere

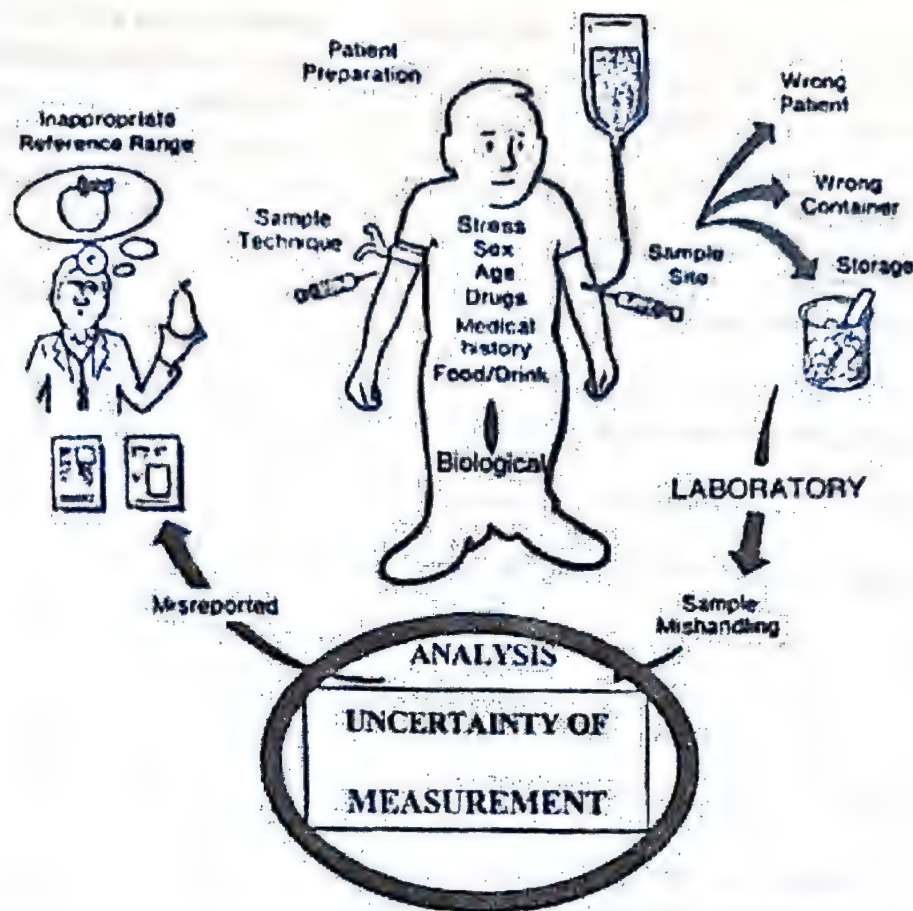


Figura 3.2 Principalele surse de eroare, care pot genera incertitudine în procesele de măsurare într-un laborator de analize medicale [11]

standard experimentală a comparatorului s_p , care poate fi utilizată apoi pentru caracterizarea procesului de măsurare pe acel comparator). Într-un astfel de caz, când se cunoaște deja s_p , se realizează n observații ale măsurandului, cu ajutorul cărora se determină valoarea medie, \bar{x} , iar apoi incertitudinea standard a mediei se calculează cu relația

$$u = s_p / \sqrt{n} \quad (3.5)$$

Evaluarea de tip A a incertitudinii standard este aplicabilă când, pe baza unui eșantion de n măsurări independente, se poate determina dispersia/varianța procesului de măsurare, adică deviația standard, SD .

3.2.3 Evaluarea incertitudinii standard de tip B

Pentru unele din variabilele X , ale modelului matematic al măsurandului Y , relația (3.2) nu este disponibilă o distribuție normală, pe baza a n măsurări, din care să se determine parametri distribuției (media aritmetică, abaterea standard

experimentală, abaterea standard experimentală a mediei) și apoi să se calculeze incertitudinea standard $u(x_i)$, ca pentru evaluarea de tip A. Pentru astfel de variabile poate exista o informație apriori (privitoare la distribuție) care trebuie să fie convertită la o abatere standard experimentală $s(x)$, cu care, apoi, să se determine incertitudinea standard $u(x) = s(x)$. Informația apriori, pe baza căreia se poate realiza o astfel de conversie, poate fi găsită în:

- rezultatele unor măsurări anterioare;
- experiența sau cunoașterea generală referitoare la comportarea și proprietățile materialelor de referință și mijloacelor de măsurare utilizate;
- specificațiile fabricanților de echipamente;
- date specificate în certificatele de etalonare sau alte certificate;
- incertitudinea atribuită valorilor de referință preluate din lucrări și manuale etc.

Informația necesară pentru conversie, spre o incertitudine standard, poate fi prezentată sub forma unui interval; se vor considera în continuare numai intervale simetrice față de valoarea medie $|X - \bar{x}| \leq a$, valoarea medie \bar{x} fiind considerată la mijlocul intervalului. Pentru aceste intervale poate exista sau nu un nivel de încredere (probabilitate, exprimată procentual).

1. Distribuția dreptunghiulară.

Limitele intervalului sunt date sub forma $\pm a$, fără a se specifica un nivel de încredere. Dacă nu există nici o informație specifică despre valorile posibile ale lui X_i în interiorul intervalului, atunci se poate presupune că valorile lui X_i se găsesc cu egală probabilitate în oricare punct al intervalului (distribuție uniformă), cu valoarea medie \bar{x} situată la mijlocul intervalului. Abaterea standard s , care este un estimator fără deplasare a lui σ , se determină cu relația (1.12)

$$u(x) = \sigma = \frac{a}{\sqrt{3}} \quad (3.6)$$

Exemplul 3.1 În certificatul însoțitor al unui metal (Cd) se specifică puritatea acestuia $99,99 \pm 0,01\%$ ($P = 0,9999 \pm 0,0001$).

Soluție: Incertitudinea standard $u(P)$ egală cu abaterea standard σ și are valoarea:

$$u(P) = \sigma = a/\sqrt{3} = 0,0001/\sqrt{3} = 0,000058 \text{ mL}$$

2. Distribuția triunghiulară.

Se pot indica limitele intervalului fără a se specifica un nivel de încredere, dar

există o rațiune prin care se consideră că: înspre limitele extreme ale intervalului valorile variabilei sunt mai puțin probabile decât în zona centrală; în astfel de cazuri se presupune o distribuție triunghiulară cu o abatere $\sigma = a/\sqrt{6}$, conform relației (1.17)

$$u(x) = \sigma = \frac{a}{\sqrt{6}}$$

Exemplul 3.2 Volumul de 10 mL (Grad A) al unui flacon este certificat cu $\pm 0,2$ mL.

Soluție: Incertitudinea standard $u(v)$ egală cu abaterea standard σ care are valoarea:

$$u(v) = \sigma = a/\sqrt{6} = 0,2/\sqrt{6} \approx 0,08 \text{ mL}$$

3. Interval $\pm a$ cu un nivel de încredere p .

În general se consideră că în interiorul intervalului există o distribuție normală. Pentru o distribuție normală pe baza TABELULUI 1.1 dându-se probabilitatea (nivelul de încredere) se poate determina limitele intervalului (acoperit prin această probabilitate), - problema inversă - sau dându-se intervalul se poate determina probabilitatea distribuției (nivelul de încredere) din acest interval - problema directă - secțiunea 1.2.2. Pentru nivelurile de încredere (p) uzuale în TABELUL 3.1 sunt date intervalele corespunzătoare $\pm a$.

TABELUL 3.1

Nivel de încredere p [%]	Intervalul $\pm a$ [$\times \sigma$]
50	0.66σ
68,27	1.00σ
90	1.645σ
95	1.960σ
95,45	2.00σ
99	2.576σ
99,73	3.00σ

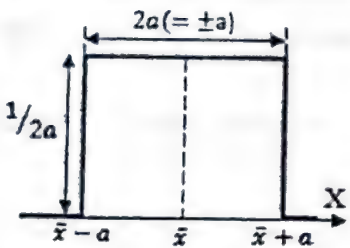
Exemplul 3.3 Specificația pentru citirile unei balanțe este $\pm 0,2$ mg pentru un nivel de încredere 95%. (vezi EXEMPLUL 1.3)

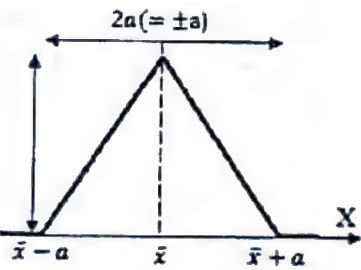
Soluție: Se consideră în interiorul intervalului $\pm a = 0,2$ mg o distribuție normală. Pentru o distribuție normală, unui nivel de încredere de 95%, din tabelul 3.1, corespunde un interval de $\pm 1,96\sigma$; din egalitatea $0,2 \text{ mg} = 1,96\sigma$ rezultă incertitudinea standard $u(m) = s(m) = \sigma = 0,2 \text{ mg}/1,96 \approx 0,1 \text{ mg}$.

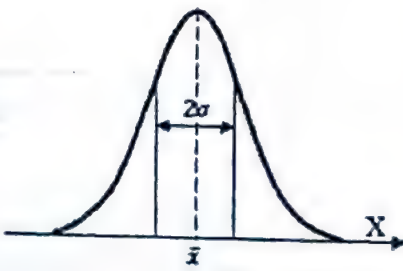
În TABELUL 3.2 sunt sintetizate modalitățile de calcul pentru incertitudi-

nea standard.

TABELUL 3.2.

DISTRIBUȚIA DREPTUNGHILARĂ		
Densitatea de probabilitate $f(X)$	Informația disponibilă poate fi:	
	<ul style="list-style-type: none"> • Într-un certificat sau în alte specificații se dau limitele, fără a se specifica nivelul de încredere (de exemplu 25 ml \pm 0,05 ml). • O estimare sub forma unui interval maxim ($\pm a$), fără nici o informație despre forma de distribuție în interiorul intervalului. 	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$

DISTRIBUȚIA TRIUNGHILARĂ		
Densitatea de probabilitate $f(X)$	Informația disponibilă poate fi:	
	<ul style="list-style-type: none"> • Informația disponibilă privitoare la variabila X este mai puțin limitată decât la o distribuție rectangulară. Valorile mai apropiate de \bar{x} sunt mai probabile decât valorile apropiate de limite. • O estimare sub forma unui interval maxim ($\pm a$), cu o distribuție simetrică. 	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$

DISTRIBUȚIA NORMALĂ		
Densitatea de probabilitate $f(X)$	Informația disponibilă poate fi:	
	<ul style="list-style-type: none"> • Estimarea se face pe baza unor măsurări repetate pe un proces aleatoriu. • Incertitudinea este data sub forma: unei abateri standard s, unei abateri standard relative s/\bar{x} (relația 2.3) sau coeficient de varianță $CV\%$, fără specificarea distribuției. • Un interval însoțit de un nivel de încredere fără a se specifica distribuția, de exemplu: <ul style="list-style-type: none"> - $\pm a$ cu nivel de încredere 95,45% - $\pm a$ cu nivel de încredere 95,7% 	$u(x) = s(x)$ $u(x) = s(x)$ $u(x) = x \cdot \left(\frac{s(x)}{\bar{x}} \right)$ $u(x) = x \cdot \left(\frac{CV\%}{100} \right)$ $u(x) = a/2$ $u(x) = a/3$

3.2.4 Calculul incertitudinii standard compusă

Incetitudinea estimării valorii măsurandului Y , notată cu $u_c(y)$ - referită ca **incertitudine compusă** - depinde de incertitudinile $u(x_i)$ ale estimărilor valorilor $x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_N$ pentru variabilele $X_1, X_2, \dots, X_i, \dots, X_N$ din relația 3.2. O incertitudine $u(x_i)$, a unei variabile X_i , influențează incertitudinea compusă printr-un coeficient c_i , deci intervine cu valoarea $c_i \cdot u(x_i)$. Dar, dacă variabilele X_i sunt corelate (se influențează reciproc) atunci în calculul valorii lui $u_c(y)$ intervin și incertitudinile relației de influențare dintre variabilele X_i ; deci în abordarea incertitudinii compuse trebuie să se distingă două cazuri pentru calculul acesteia: cu mărimi de intrare necorelate (independente) și cu mărimi de intrare corelate.

1. Calculul incertitudinii compuse cu mărimi de intrare necorelate.

O incertitudine $u_i(x)$ a unei variabile X_i influențează incertitudinea compusă proporțional cu un coeficient de sensibilitate c_i , deci intervine cu valoarea $c_i \cdot u(x_i)$. Calculul incertitudinii compuse se bazează pe legea generală a propagării erorilor din teoria calculului, care aplicată pentru incertitudini se exprimă prin: *dispersia/varianța măsurandului Y este egală cu suma dispersiilor/varianțelor variabilelor X_i* . Dar, deoarece ca măsură a incertitudinii este abaterea standard experimentală, care la pătrat este egală cu dispersia/varianța (vezi relația 1.3) înseamnă că pătratul incertitudinii compuse $u_c^2(y)$ este egal cu suma pătratelor $u^2(x_i)$ incertitudinilor variabilelor X_i , adică o exprimare prin următoarea relație:

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N [c_i \cdot u(x_i)]^2 = \sum_{i=1}^N u_i^2(y) \quad (3.8-a)$$

sau

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N [c_i \cdot u(x_i)]^2} = \sqrt{\sum_{i=1}^N u_i^2(y)} \quad (3.8-b)$$

unde s-a notat $c_i \cdot u(x_i) = u_i(y)$

Fizic, coeficientul de sensibilitate c_i exprimă cantitativ variația Δy obținută în valoarea estimății lui Y produsă de o variație Δx_i a variabilei de intrare X_i . Coeficienții c_i se pot determina:

1. ca derivate parțiale ale funcției f în raport cu fiecare variabilă de intrare X_i .

$$c_i = \frac{\partial f}{\partial x_i} \quad (3.9-a)$$

și atunci relația (3.8-b) se poate rescrie

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \cdot u_i^2(x_i)} \quad (3.9-b)$$

sau

2. pe cale experimentală. Experimental, se măsoară variația Δy produsă de o variație Δx_i (când celelalte variabile de intrare sunt menținute constante) și se calculează raportul $c_i = \Delta y / \Delta x_i$.

Relația de calcul (3.8-b) pentru incertitudine compusă $u_c(y)$ se reduce la expresii relativ simple (când $c_i = 1$) pentru următoarele două forme uzuale ale funcției f .

Regula 1. Funcția f este numai sume/diferențe de variabile de intrare

$$Y = X_1 + X_2 - X_3 + X_4 - \dots$$

Incetitudinea compusă se calculează cu relația:

$$u_c(y) = \sqrt{u_1^2(y) + u_2^2(y) + u_3^2(y) + u_4^2(y) + \dots} \quad (3.10-a)$$

- Se observă că, în relația incertitudinii compuse, $u_c(y)$, diferențele sunt tratate în același mod ca și sumele.

Exemplul 3.4 Calculul concentrației de LDL-colesterol, se efectuează cu formula lui Frederikson

Concentrație LDL-colesterol = Colesterol total - (HDL-colesterol + Trigliceride/2,2) mmol/L

Estimarea incertitudinii compuse u_{cLDL} , pentru LDL-colesterol calculat, conform relației (3.10-a) se obține

$$u_{cLDL} = \sqrt{u_{C_{tot}}^2 + u_{HDL}^2 + u_{Trig}^2}$$

în care $u_{C_{tot}}$, u_{HDL} , u_{Trig} sunt respectiv incertitudinile componente respectiv pentru Colesterol-total, HDL-colesterol și Trigliceride.

Pentru un pacient având concentrațiile: Colesterol total = 5,8 mmol/L, HDL-colesterol = 1,08 mmol/L și Trigliceride = 1,60 mmol/L, iar din controlul intern de calitate sunt calculate incertitudinile componente $u_{C_{tot}} = 0,16$, $u_{HDL} = 0,04$, $u_{Trig} = 0,07$ rezultă valoarea concentrației pentru LDL-colesterol

$$\text{Concentrație LDL-colesterol} = 5,8 - 1,08 - 0,72 = 4,0 \text{ mmol/L}$$

și valoarea incertitudinii compuse u_{cLDL}

$$u_{cLDL} = \sqrt{0,16^2 + 0,04^2 + 0,07^2} = \sqrt{0,0321} = 0,17 \text{ mmol/L}$$

Rezultatul se raportează, pentru $k = 2$, $U = k \cdot u_{cLDL} = 2 \cdot 0,17 = 0,4 \text{ mmol/L}$ sub forma:

$$\text{Concentrație LDL-colesterol} = 4,0 \pm 0,4 \text{ mmol/L, pentru } k = 2$$

Regula 2. Funcția este numai produse/rapoarte de variabilele de intrare:

$$Y = X_1 \cdot X_2 \cdot X_3 \cdot \dots \quad \text{sau} \quad Y = \frac{X_1}{X_2 \cdot X_3 \cdot X_4 \cdot \dots}$$

Incertitudinea compusă se calculează cu relația:

$$\frac{u_c(y)}{y} = \sqrt{\left(\frac{u(x_1)}{x_1}\right)^2 + \left(\frac{u(x_2)}{x_2}\right)^2 + \left(\frac{u(x_3)}{x_3}\right)^2 + \left(\frac{u(x_4)}{x_4}\right)^2 + \dots} \quad (3.10-b)$$

- Se observă că, în relația incertitudinii compuse relative, $\frac{u_c(y)}{y}$, împărțirea este tratată în același mod ca și înmulțirea.

Exemplul 3.5 Clairence-ul renal, C , pentru creatinină se calculează cu relația:

$$C = \frac{U \cdot V}{P \cdot t} \quad [\text{mL/s}]$$

în care:

C - Clairence-ul renal [mL/s];

P - Concentrația de creatinină plasmatică [mmol/L];

U - Concentrația de creatinină urinară [mmol/L];

V - Volumul de urină [mL];

t - Durata de colectare [s]

Pentru valorile acestor mărimi, obținute prin măsurare și a incertitudinilor lor asociate calculate/estimate

$$P = 0,1 \text{ mmol/L} \quad u_P = 0,004 \text{ mmol/L}$$

$$U = 10,0 \text{ mmol/L} \quad u_U = 0,5 \text{ mmol/L}$$

$$V = 1500 \text{ mL} \quad u_V = 100 \text{ mL (estimație)}$$

$$t = 86400 \text{ s (în 24 ore)} \quad u_t = 1800 \text{ s (estimație)}$$

să se calculeze valoarea clairence-ului renal, C , și incertitudinea compusă, u_{clair} . Conform relației clairence-ului renal și a relației pentru incertitudinea compusă 3.10-b se obține

$$C = \frac{10 \cdot 1500}{0,1 \cdot 86400} = 1,74 \text{ mL/s} \quad (104 \text{ mL/min})$$

$$\begin{aligned} u_{clair} &= C \sqrt{\left(\frac{u_U}{U}\right)^2 + \left(\frac{u_V}{V}\right)^2 + \left(\frac{u_P}{P}\right)^2 + \left(\frac{u_t}{t}\right)^2} = \\ &= 1,74 \sqrt{\left(\frac{0,5}{10}\right)^2 + \left(\frac{100}{1500}\right)^2 + \left(\frac{0,004}{0,1}\right)^2 + \left(\frac{1800}{86400}\right)^2} = 0,165 \text{ mL} \end{aligned}$$

Clairance-ul renal se poate raporta:

$$C = 1,74 \pm 0,33 \text{ mL/s, pentru } k = 2 \text{ sau } C = 104 \pm 20 \text{ mL/min}$$

2. Calculul incertitudinii standard compusă cu mărimi de intrare corelate.

Dependența mutuală a două variabile aleatorii X_i și X_j este exprimată prin noțiunea de covarianță, $\text{cov}(X_i, X_j) = \text{cov}(X_j, X_i)$. Gradul de corelație între variabile este introdus cantitativ prin parametrul $r(x_i, x_j)$ denumit **coeficient de corelație** care are următoarea expresie

$$r(x_i, x_j) = \frac{\text{cov}(x_i, x_j)}{u(x_i) \cdot u(x_j)} \quad (3.11)$$

și are valoarea $-1 \leq r(x_i, x_j) \leq +1$; pentru $r(x_i, x_j) = 0$ variabilele x_i, x_j nu sunt corelate (au variații independente).

Pentru două variabile x_i și x_j cu variație aleatorie pe baza a n perechi de măsurări simultane și în aceleași condiții se calculează valorile medii \bar{x}_i și \bar{y}_i , relația (2.2), atunci $\text{cov}(x_i, x_j)$ se determină cu abaterea standard experimentală, $s(\bar{x}_i, \bar{y}_i)$, pentru două variabile conform relației următoare:

$$\text{cov}(x_i, x_j) = s(\bar{x}_i, \bar{x}_j) = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{k=1}^N (x_{ik} - \bar{x}_i)(x_{jk} - \bar{x}_j) \quad (3.12)$$

deci relația (3.11) poate fi calculată și în felul următor:

$$r(x_i, x_j) = r(\bar{x}_i, \bar{x}_j) = \frac{s(\bar{x}_i, \bar{x}_j)}{s(\bar{x}_i) \cdot s(\bar{x}_j)} \quad (3.13)$$

Cu ajutorul relației (3.13) se calculează valoarea coeficientului de corelație $r(x_i, x_j)$; valorile pentru $s(\bar{x}_i, \bar{x}_j)$ se obțin cu relația (3.12), iar valorile pentru $s(\bar{x}_i)$ și $s(\bar{x}_j)$ se obțin cu relația (2.5). Coeficientul de corelație $r(x_i, x_j)$ se poate determina și experimental în felul următor: se produce o variație Δx_i a variabilei x_i și se măsoară variația Δx_j produsă variabilei x_j ; valoarea coeficientului se obține cu relația:

$$r(x_i, x_j) = \frac{u(x_i) \cdot \Delta x_j}{u(x_j) \cdot \Delta x_i} \quad (3.14)$$

Relația pentru calculul incertitudinii compusă $u_c(y)$, pentru cazul când există variabile corelate, se obține din relația (3.8-b) pentru variabile de intrare necorelate, la care se adaugă un termen pentru efectele de corelare, sub forma următoare:

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N [c_i \cdot u(x_i)]^2 + 2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N [c_i \cdot u(x_i)] \cdot [c_j \cdot u(x_j)] \cdot r(x_i, x_j)} \quad (3.15)$$

Termenul al doilea de sub radical este zero, când variabilele sunt necorelate, deoarece coeficientul de corelație respectiv este nul, $r(x_i, x_j) = 0$.

- Între două mărimi de intrare poate exista o corelație semnificativă, dacă pentru măsurarea lor se folosește același mijloc de măsurare, același etalon fizic sau aceeași data de referință care are o incertitudine standard semnificativă; în următoarele două exemple se prezintă astfel de cazuri.

Exemplul 3.6 Uneori, este nevoie să se determine o corecție de temperatură pentru estimarea valorii unei marimi de intrare x_i și, în acest scop, se folosește un termometru. Dacă pentru o corecție similară, pentru estimarea valorii unei altei mărimi de intrare, x_j , se folosește același termometru, atunci cele două mărimi x_i și x_j pot fi corelate în mod semnificativ.

Exemplul 3.7 În general, în procesele de etalonare prin comparare, valorile estimate ale entităților etalonate sunt corelate. Gradul de corelare, ale acestor entități etalonate, depinde de raportul dintre incertitudinea procesului de comparare și incertitudinea etalonului/materialului de referință. În practică, incertitudinea procesului de măsurare este neglijabilă în raport cu incertitudinea etalonului, în acest fel rezultă că incertitudinea asociată entităților etalonate este egală doar cu incertitudinea etalonului.

Interdependența a două variabile, x_i și x_j , prin intermediul unei mărimi/element de influență (în Exemplul 3.6 și 3.7 termometrul, respectiv etalonul/materialul de referință), în practică, se consideră, cu o interdependență neglijabilă; în consecință, se admite că variabilele x_i și x_j nu sunt corelate.

Se recomandă ca pentru efectuarea calculelor, în estimarea incertitudinii compuse, să se utilizeze o structurare ca cea dată în tabelul bugetului de incertitudine, TABELUL 3.3

TABELUL 3.3 Bugetul de incertitudine

Simbol compo- nentă	Valoare compo- nentă	Unitate de măsură { }	Tip de incert.	Incertitudine standard $u(x_i)$	Coeficient de Sensibilitate $ c_i $	Contribuția fiecărei componente	
						Absolută	Relativă, %
X_1	x_1	$[x_1]$	Tip A	$u(x_1)$	$ c_1 $	$c_1^2 \cdot u^2(x_1)$	$\frac{c_1^2 \cdot u^2(x_1)}{\sum_{i=1}^N c_i^2 \cdot u^2(x_i)} \cdot 100$
X_2	x_2	$[x_2]$	Tip B	$u(x_2)$	$ c_2 $	$c_2^2 \cdot u^2(x_2)$	$\frac{c_2^2 \cdot u^2(x_2)}{\sum_{i=1}^N c_i^2 \cdot u^2(x_i)} \cdot 100$
\vdots	\vdots	\vdots	\vdots	\vdots	\vdots	\vdots	\vdots
X_N	x_N	$[x_N]$	Tip B	$u(x_N)$	$ c_N $	$c_N^2 \cdot u^2(x_N)$	$\frac{c_N^2 \cdot u^2(x_N)}{\sum_{i=1}^N c_i^2 \cdot u^2(x_i)} \cdot 100$
Y	y	$[y]$	$\sqrt{\sum_{i=1}^N c_i^2 \cdot u^2(x_i)}$				$u_c(y) = \dots$

3.2.5 Incertitudinea extinsă

Pentru calculul incertitudinii standard compusă $u_c(y)$, (relația 3.15 sau simplificată 3.8-b) se consideră incertitudinile $u(x_i)$ ale tuturor variabilelor X_i din relația (3.2), care au valori semnificative. Aceste incertitudini $u(x_i)$ sunt fie de tip A, fie de tip B - adică au fost deduse pentru variabile aleatoare cu o distribuție de probabilitate normală (bazate pe observații repetate), respectiv pentru variabile cu o distribuție dreptunghiulară sau triunghiulară (bazate pe informație apriori). Dar, în general, distribuțiile considerate normale sunt, în majoritatea cazurilor, aproximativ normale deoarece sunt determinate pentru un număr de observații relativ redus și nu pentru un număr de observații (teoretic) infinit, ceea ce ar corespunde distribuției (adevărat) normale, relația (1.1). Estimarea distribuției aproximativ normale printr-o distribuție (adevărat) normală are credibilitate numai dacă numărul de grade de libertate ν , al variabilei aleatorii respective, are o valoare ridicată. Pentru o singură variabilă aleatorie, estimată prin media aritmetică, relația (2.1), pe baza a n observații independente, numărul de grade de libertate (vezi pag. 45) se calculează cu următoarea relație

$$\nu = n - 1 \quad (3.16)$$

Se pune întrebarea: prin compunerea/(convoluția) distribuțiilor de probabilitate ale variabilelor X_i , a căror incertitudini intră în calculul incertitudinii compuse, $u_c(y)$, care este distribuția de probabilitate rezultată pentru măsurandul Y , din relația (3.2); răspunsul la această întrebare este dat de teorema limitei centrale.

• Teorema limitei centrale arată că: dacă funcția y este o funcție liniară de variabilele X_i ,

$$Y = c_1 X_1 + c_2 X_2 + \dots + c_i X_i + \dots + c_N X_N = \sum_{i=1}^N c_i X_i \quad (3.17)$$

și dacă variabilele X_i sunt caracterizate prin distribuții de probabilitate normală, atunci și distribuția rezultată a lui Y este, de asemenea, normală. Mai mult, chiar dacă variabilele X_i nu au o distribuție normală, totuși, distribuția lui Y tinde/converge către o distribuție normală și această tendință este cu atât mai pronunțată spre o distribuție normală cu cât numărul componentelor incertitudinilor $u(x_i)$, care intră în calculul incertitudinii compuse, $u_c(y)$, este mai mare și valorile acestor componente de incertitudine sunt mai apropiate între ele. Conform teoremei limitei centrale, de exemplu, chiar și compunerea/convoluția a trei distribuții dreptunghiulare de lărgime egală va produce o distribuție aproximativ normală (estimată ca o distribuție normală). Pe baza acestei teoreme, care arată că distribuția rezultată pentru măsurandul Y , prin compunere incertitudinilor componente, poate fi considerată ca o distribuție normală, deci pentru această distribuție rezultată se poate determina un interval Δ în care, cu o probabilitate dată p , sunt situate valorile măsurandului Y (problema inversă, secțiunea 1.2.2).

• Cu toate că incertitudinea compusă, $u_c(y)$, poate fi folosită universal pentru exprimarea incertitudinii rezultatului unei măsurări, în unele aplicații este, deseori, nevoie să se dispună de o măsură a incertitudinii care să definească, în jurul rezultatului y al măsurării, *un interval în care să se poată considera că este cuprinsă o mare parte a distribuției valorilor ce, în mod rezonabil, pot fi atribuite măsurandului Y .* În această abordare, pentru exprimarea incertitudinii, care să satisfacă cerința de a oferi un interval în jurul valorii măsurandului, este introdusă noțiunea de incertitudine extinsă (sau globală), care este notată cu U . Incertitudinea extinsă se obține prin multiplicarea incertitudinii standard compusă, $u_c(y)$, cu un factor de extensie k

$$U = k \cdot u_c(y) \quad (3.18)$$

Rezultatul măsurării se exprimă, acum, sub forma

$$Y = y \pm U = y \pm k \cdot u_c(y) \quad (3.19-a)$$

sau

$$y - U \leq Y \leq y + U \quad (3.19-b)$$

Această formă de exprimare a rezultatului măsurării se interpretează astfel: cea mai bună estimatie a valorii atribuite măsurandului Y este y , iar de la $y - U$ până la $y + U$ este un interval în care se poate considera că este cuprinsă o mare parte a distribuției valorilor ce, în mod rezonabil pot fi atribuite lui Y . Înmulțirea lui $u_c(y)$ cu constanta k nu oferă o informație nouă, ci prezintă aceeași informație disponibilă, dar sub o altă formă.

De fapt, incertitudinea standard compusă a măsurandului, $u_c(y)$, obținută prin compunerea incertitudinilor componente $u(x_i)$ (conform relațiilor 3.8 sau 3.15), poate fi interpretată ca intervalul cu semilățimea egală cu abaterea standard experimentală a lui Y în care se află 68,27% (nivel de încredere) din valorile acestuia (bazat pe faptul că prin compunere/(convoluție) distribuția rezultată pentru Y tinde către o distribuție normală). Incertitudinea extinsă U mărește intervalul $u_c(y)$ de k ori, care, în fond, corespunde unei alte probabilități (alt nivel de încredere); în general, această extindere se face la dublu sau triplul abaterii standard experimentale, ceea ce corespunde pentru alegere lui $k = 2$ sau 3.

• În practică, (considerând că distribuția de probabilitate caracterizată prin y și $u_c(y)$ este aproximativ normală și numărul de grade de libertate, ν_{ef} , ale lui $u_c(y)$ este semnificativ de mare) recomandarea în determinarea incertitudinii extinse este:

- în general, se alege $k = 2$, care realizează un interval de încredere $\pm 2u_c(y)$ în jurul valorii y a măsurandului Y , ceea ce corespunde unui nivel de încredere (probabilitate) de aproximativ 95%, sau pentru aplicații mai riguroase
- se alege $k = 3$, care realizează un interval de $\pm 3u_c(y)$ în jurul valorii y a măsurandului Y , ceea ce corespunde unui nivel de încredere de aproximativ 99%.

Pentru alte valori uzuale ale nivelului de încredere valoarea coeficientului de extindere k se poate găsi în TABELUL 3.1; iar pentru o valoare oricare a nivelului de încredere, coeficientul k , cu care se multiplică $u_c(y)$, se poate calcula conform modului prezentat în secțiunea 1.2.2 (problema inversă).

• Recomandările anterioare pentru alegerea coeficientului de extindere k s-au făcut pe baza evaluării unei distribuții de probabilitate aproximativ normală a măsurandului Y cu o distribuție normală (justificată de teorema limitei centrale). Dar, o valoare mai exactă pentru coeficientul de extindere k se obține dintr-o distribuție de tip t (distribuția Student, Figura 2.3) ale cărei valori sunt date în TABELUL 3.4, din care alegerea lui k se face atât în funcție de nivelul de încredere p cât și în funcție de numărul efectiv de grade de libertate, ν_{ef} . Numărul efectiv de grade de libertate pentru măsurandul Y se calculează cu relația

$$\nu_{ef} = \frac{u_c^4(y)}{\sum_{i=1}^N \frac{u_i^4(y)}{\nu_i}} \quad (3.20)$$

în care ν_i este numărul de grade de libertate, calculat după relația (3.16), pentru variabila x_i (numărul de grade de libertate pentru variabilele care au o distribuție de probabilitate de tip dreptunghiular este $\nu_i \rightarrow \infty$, deci $1/\nu_i = 0$).

Exemplul 3.8 Se consideră pentru măsurandul Y expresia: $Y = f(X_1, X_2, X_3) = X_1 \cdot X_2 \cdot X_3$ ale cărei mărimi de intrare au o distribuție normală. Pe baza valorilor mărimilor de intrare, x_1, x_2, x_3 , măsurate respectiv de $n_1 = 10$, $n_2 = 5$ și $n_3 = 15$ ori, s-au calculat următoarele incertitudini standard relative: $u(x_1)/x_1 = 0,25\%$, $u(x_2)/x_2 = 0,57\%$ și $u(x_3)/x_3 = 0,82\%$. Să se determine coeficientul de extindere k pentru un nivel de încredere 95%.

Soluție: Incertitudinea compusa relativă se calculează conform relației (3.10-b)

$$\frac{u_c(y)}{y} = \sqrt{\left(\frac{u(x_1)}{x_1}\right)^2 + \left(\frac{u(x_2)}{x_2}\right)^2 + \left(\frac{u(x_3)}{x_3}\right)^2} \cdot 100 = 1,03\%$$

Numarul efectiv de grade de libertate se calculează cu relația (3.20):

$$\nu_{ef} = \frac{\left(\frac{u_c(y)}{y}\right)^4}{\left(\frac{u(x_1)}{x_1}\right)^4 \cdot \frac{1}{\nu_1} + \left(\frac{u(x_2)}{x_2}\right)^4 \cdot \frac{1}{\nu_2} + \left(\frac{u(x_3)}{x_3}\right)^4 \cdot \frac{1}{\nu_3}} = \frac{1,03^4}{\frac{0,25^4}{10-1} + \frac{0,57^4}{5-1} + \frac{0,82^4}{15-1}} = 19,0$$

- Determinarea coeficientului de extindere k

Din TABELUL 3.4, pentru $\nu = 19$ și $p = 95\%$ rezultă $k = 2,09$, deci incertitudinea extinsă pentru acest nivel de încredere este: $U_{95} = 2,09 \cdot u_c(y) = 2,09 \cdot (1,03\%y) = 2,2y\% = 0,022y$.

Valoare estimată pentru y (determinat cu relația $X_1 \cdot X_2 \cdot X_3$) se raportează sub forma

$$Y = y \pm U_{95} = y(1 \pm 0,022) \quad \text{sau} \quad 0,978y \leq Y \leq 1,022y$$

iar nivelul de încredere asociat acestui interval este aproximativ 95%.

• Distribuția Student pentru $\nu \rightarrow \infty$ devine o distribuție normală, deci ultima linie din Tabelul 3.4 corespunde cu valorile din Tabelul 3.1.

Tabelul 3.4 Valorile lui $tp(\nu)$ din distribuția t (distribuția Student) pentru ν grade de libertate, care definește un interval de la $-tp(\nu)$ până la $+tp(\nu)$ ce cuprinde fracțiunea p a distribuției

Numărul de grade de libertate ν	Fracțiunea $p\%$					
	68,27	90	95	95,45	99	99,73
1	1,84	6,31	12,71	13,97	63,66	235,80
2	1,32	62,92	4,30	4,53	9,92	19,21
3	1,20	2,35	3,18	3,31	5,84	9,22
4	1,14	2,13	2,78	2,87	4,60	6,62
5	1,11	2,02	2,57	2,65	4,03	5,51
6	1,09	1,94	2,45	2,52	3,71	4,90
7	1,08	1,89	2,36	2,43	3,50	4,53
8	1,07	1,86	2,31	2,37	3,36	4,28
9	1,06	1,83	2,26	2,32	3,25	4,09
10	1,05	1,81	2,23	2,28	3,17	3,96
11	1,05	1,80	2,20	2,25	3,11	3,85
12	1,04	1,78	2,18	2,23	3,05	3,76
13	1,04	1,77	2,16	2,21	3,01	3,69
14	1,04	1,76	2,14	2,20	2,98	3,64
15	1,03	1,75	2,13	2,18	2,95	3,59
16	1,03	1,75	2,12	2,17	2,92	3,54
17	1,03	1,74	2,11	2,16	2,90	3,51
18	1,03	1,73	2,10	2,15	2,88	3,48
19	1,03	1,73	2,09	2,14	2,86	3,45
20	1,03	1,72	2,09	2,13	2,85	3,42
25	1,02	1,71	2,06	2,11	2,79	3,33
30	1,02	1,70	2,04	2,09	2,75	3,27
35	1,01	1,70	2,03	2,07	2,72	3,23
40	1,01	1,68	2,02	2,06	2,70	3,20
45	1,01	1,68	2,01	2,06	2,69	3,18
50	1,01	1,68	2,01	2,05	2,68	3,16
100	1,005	1,660	1,984	2,025	2,626	3,077
∞	1,000	1,645	1,960	2,000	2,576	3,000

3.2.6 Raportarea incertitudinii

• Informația necesară în prezentarea rezultatului unei măsurări depinde de destinația utilizării rezultatului. Este recomandabil a se conforma următoarelor indicații:

- să se prezinte suficientă informații astfel încât să fie posibil, ulterior, o reevaluare a măsurării dacă noi date sau informații devin disponibile;
- este preferabil să fie prezentată mai multă informație decât prea puțină.

• Dispunând de rezultatul măsurării y și incertitudinea standard compusă $u_c(y)$, prezentarea poate fi făcută sub una din următoarele trei forme (textul dintre paranteze poate fi omis); pentru exemplificare se consideră raportarea unui etalon de masă m_e , cu valoarea nominală de 100 g:

1. " $m_e = 100,021\,47$ g, cu (incertitudinea standard compusă) $u_c = 0,35$ mg".
2. " $m_e = 100,021\,47(35)$ g, unde numărul din paranteze este valoarea numerică (a incertitudinii standard compusă) u_c , exprimată în cifre de același rang cu ultimele cifre ale rezultatului".
3. " $m_e = 100,021\,47(0,000\,35)$ g, unde numărul din paranteze este valoarea (incertitudinii standard compuse) u_c exprimată în aceleași unități ca și rezultatul furnizat".

Când se raportează rezultatul unei măsurări și măsura incertitudinii este incertitudinea extinsă $U = k \cdot u_c(y)$, conform relației (3.19) forma de prezentare este următoare:

4. " $m_e = (100,02147 \pm 0,00070)$ g, unde numărul care urmează după semnul \pm este valoarea numerică a (incertitudinii extinse) $U = k \cdot u_c(y)$, determinată pe baza incertitudinii standard compuse $u_c(y) = 0,35$ mg și a factorului de extindere $k = 2$ și definește un interval estimat a avea un nivel de încredere de 95%".

Dacă factorul de încredere s-a determinat pe baza distribuției Student, TABELUL 3.4: $[(m_e = 100,02147 \pm 0,0079)$ g], atunci ultima propoziție din aserțiunea anterioară va fi "... și a factorului de extindere $k = 2,26$ bazat pe distribuția t , pentru $\nu = 9$ grade de libertate și definește un interval estimat a avea un nivel de încredere de 95%".

Exemplul 3.9 Rezultatul unei analize se poate raporta în unul din următoarele două moduri (sau ambele):

1. În valori absolute (pentru glicemie):

$$y = 6,44 \text{ mmol/L} \pm 0,64 \text{ mmol/L} \quad \text{pentru } k = 2$$

sau

$$y = 11,2 \text{ mmol/L} \pm 1,3 \text{ mmol/L} \quad \text{pentru } k = 2$$

se observă că numărul cifrelor semnificative zecimale ale incertitudinii extinse se alege egal cu numărul de cifre semnificative zecimale ale valorii măsurate.

2. În valori relative (pentru hemoglobină glicozilată):

Pentru analiza de hemoglobină glicozilată la care s-a obținut un rezultat de 5% și căruia i se asociază o incertitudine extinsă (în valoare relativă) de 6%, din procentajul de 5%, $\left(\frac{(5\%)}{100} \cdot 6 = 0,3\%\right)$ rezultatul se raportează în felul următor:

$$y = (5 \pm 0,3)\% \quad [\text{mmol/L}] \quad (\text{pentru } k=2)$$

respectiv, pentru un rezultat al analizei de 7% căruia i se asociază o incertitudine extinsă de 6%, $\left(\frac{(7\%)}{100} \cdot 6 = 0,4\%\right)$ raportarea rezultatului este:

$$y = (7 \pm 0,4)\% \quad [\text{mmol/L}] \quad (\text{pentru } k=2)$$

Pentru că valoarea incertitudinii estimate depinde de nivelurile de concentrație, laboratorul poate raporta o singură valoare pentru incertitudine, obținută prin interpolarea valorilor de pe diferite domenii/niveleuri sau se raportează fiecare domeniu cu incertitudinea estimată respectivă. Incertitudinea se reevaluează de fiecare dată când apare o schimbare semnificativă în procesul de măsurare (automatul, reactivi etc). Valoarea incertitudinii estimate, pentru un proces de măsurare, se asociază tuturor măsurărilor efectuate cu acel proces până la o nouă evaluare a valorii incertitudinii!

• Raportul detaliat care descrie modul în care a fost obținut rezultatul unei măsurări și incertitudinea asociată acestuia, trebuie să țină cont de următoarele recomandări:

1. Să se prezinte valoarea fiecărei estimații de intrare x_i și a incertitudinii standard $u(x_i)$, împreună cu o descriere a modului în care au fost obținute acestea.
2. Să se prezinte covarianțele estimate sau coeficienții de corelație estimați (preferabil ambii) asociați cu toate estimațiile de intrare care sunt corelate, precum și metodele utilizate pentru obținerea acestora.

3. Să se prezinte numărul de grade de libertate pentru incertitudinea standard a fiecărei estimații de intrare și modul în care au fost obținute acestea.
4. Să se prezinte relația funcțională $Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$ și, atunci când se consideră util, derivatele parțiale sau coeficienții de sensibilitate $\frac{\partial f}{\partial X_i}$.

Cu cât se urcă în lanțul ierarhic al măsurărilor, sunt necesare din ce în ce mai multe detalii despre modul în care s-au obținut rezultatul măsurării și incertitudinea acesteia. La niveluri inferioare ale lanțului ierarhic al măsurărilor (măsurări de rutină), dacă mijloacele de măsurare utilizate satisfac cerințele prescripțiilor sau ale documentelor normative existente, atunci incertitudinile indicațiilor lor pot fi deduse din aceste specificații sau documente normative.

3.2.7 Sumar al procedurii de evaluare și exprimare a incertitudinii

I. Definirea măsurandului.

1. Definirea relației (modelului) matematice a măsurandului Y ca funcție de toate mărimile de intrare X_i , de care depinde, sub forma:
 $Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$, (relația (3.2)).

II. Identificarea surselor de incertitudine.

2. Identificarea în modelul matematic al lui Y , pentru fiecare variabilă de intrare X_i , tipul de incertitudine (tip A sau tip B) cu care contribuie în calculul incertitudinii compuse; în plus, funcția f se completează cu toate corecțiile și factorii de corecție care pot contribui cu o componentă semnificativă în calculul incertitudinii asociate rezultatului măsurării.
3. Pentru mărimile de intrare X_i , care au o distribuție de probabilitate bazată pe o distribuție de frecvență, se realizează un șir $x_{i,k}$ de observații (se determină media aritmetică experimentală \bar{x}_i , relația (2.1)). Pentru celelalte mărimi de intrare din modelul matematic al lui Y se consideră incertitudini ca provenind de la surse externe (informație apriori), cum sunt: mărimile asociate etaloanelor, materialelor de referință certificate sau a valorilor de referință preluate din literatura de specialitate.

III. Cuantificarea componentelor de incertitudine

4. Evaluarea incertitudinii standard $u(x_i)$ a fiecărei estimații de intrare x_i . Pentru o estimație de intrare obținută printr-un șir de observații și o analiză statistică, de la punctul 3, incertitudinea standard se calculează conform relațiilor din secțiunea 3.2.2 (evaluare de tip A a incertitudinii standard). Iar pentru celelalte variabile sau coeficienți de corecție

din modelul matematic al lui Y , folosind o informație apriori despre distribuția de probabilitate, incertitudine standard $u(x_i)$ se calculează conform relațiilor din secțiunea 3.2.3 (evaluare de tip B a incertitudinii standard)

5. Evaluarea covarianțelor asociate cu toate esimațiile de intrare care sunt corelate (secțiunea 3.2.4).
6. Calculul rezultatului măsurării, adică a estimației y a măsurandului Y , pe baza relației funcționale f , folosind pentru mărimile de intrare X_i estimațiile x_i (mediile aritmetice experimentale) obținute la punctul 3.

IV. Calculul incertitudinii standard compusă

7. Determinarea incertitudinii standard compusă $u_c(y)$ a rezultatului măsurării y pe baza incertitudinilor standard și a covarianțelor asociate cu estimațiile de intrare, conform relațiilor din secțiunea 3.2.4
8. Pentru cazurile când este necesar ca rezultatul estimării incertitudinii să furnizeze un interval de la $y - U$ până la $y + U$, în care se poate considera că este cuprinsă o mare parte a distribuției valorilor, ce în mod rezonabil, pot fi atribuite măsurandului Y , atunci se calculează incertitudinea extinsă U (secțiunea 3.2.5). Incertitudinea extinsă U se obține din incertitudinea standard compusă $u_c(y)$ înmulțită cu un factor de extindere k , aflat de obicei în intervalul de la 2 la 3, $U = k \cdot u_c(y)$. Pentru un calcul mai exact al coeficientului de extindere k , care să genereze un interval cu un nivel de încredere apropiat de o valoare specificată, se calculează numărul efectiv de grade de libertate, ν_{ef} , relația (3.20), și pe baza distribuției t (distribuția Student), din TABELUL 3.4, se citește factorul de extindere t ($= k$)

V. Raportarea rezultatului

9. Raportarea rezultatului estimării măsurării y împreună cu incertitudinea standard compusă $u_c(y)$ sau cu incertitudinea extinsă U se face conform modalităților expuse în secțiunea 3.2.6. Este foarte indicat să se descrie modul cum au fost obținute valorile pentru y , $u_c(y)$ sau U .

Exemple de estimare de incertitudine prin metoda analitică sunt expuse în Anexa 1 și Anexa 2.

3.3 ESTIMAREA INCERTITUDINII PRIN METODE NEANALITICE

Detalierile și dificultățile întâlnite în calculul incertitudinii prin metoda analitică, practic, nu pot fi rezolvate pentru estimarea incertitudinii de măsurare cu aplicare la un laborator medical pentru analize de rutină. Pentru un astfel de laborator informația necesară estimării incertitudinii de măsurare trebuie extrasă, fără costuri și consum de timp ridicate, adică din acele activități deja efectuate în laborator cum sunt: baza de date rezultată în urma validării metodei sau baza de date formată prin controlul intern de calitate (QC), rezultatele obținute în urma intercomparărilor. Informația extrasă este necesară, în fond, conform relației (3.1) pentru estimarea incertitudinilor asociate celor două efecte: cel aleatoriu (precizia) și cel sistematic (exactitatea), în acesta se va încadra și incertitudinea de etalonare. Metodele neanalitice următoare va calcula, prin diferite variante, incertitudinea compusă numai prin cele două componente corespunzătoare: efectelor sistematice și celui aleatoriu.

3.3.1 Estimarea incertitudinii de măsurare din caracteristicile metodei

Prin această metodă se estimează incertitudinea de măsurare folosind doar date deja determinate în cadrul laboratorului (validarea metodei sau controlul intern de calitate)

A. Componenta aleatorie. Componenta aleatorie a erorii, ϵ_a , reflectă distribuția măsurărilor în jurul valorii medii \bar{x} , adică precizia procesului de măsurare. Ca măsură pentru precizie se consideră abaterea standard experimentală, relația (2.2), abaterea standard relativă, relația (2.3), sau coeficientul de variație, relația (2.4). Uzual, pentru precizie, se cuantifică incertitudinea standard, u_p , prin valoarea abaterii standard experimentale corespunzătoare preciziei intermediare $s(x)$ (reproductibilitatea internă), adică

$$u_p = s(x) \quad (3.21)$$

Pentru metodele de rutină se recomandă ca reproductibilitatea internă să se calculeze pentru date din baza de date colectate, prin controlul intern de calitate, pe un interval de minimum șase luni. Pentru metode noi sau metode ce nu sunt frecvent utilizate se recomandă un minim 30 de măsurări pe o durată în care să se cuprindă cel puțin două calibrări și schimbări de loturi de reactivi.

B. Componenta sistematică. Eroare sistematică se reflectă în mai multe componente de incertitudine. (care se reduce la o singură componentă prin metoda 3.3.2)

1. *Incetitudinea de etalonare.* Dacă există certificat de etalonare pentru analizor atunci se consideră incertitudinea de etalonare specificată U_{et} . Această incertitudine, în general este exprimată ca o incertitudine extinsă cu nivel de încredere 95% ($k = 2$); deci se obține abaterea standard (incertitudinea standard) de etalonare prin divizare la coeficientul de extindere k

$$u_{et} = U_{et}/k$$

2. *Deplasarea/Bias-ul.* Valoarea exactității, determinată prin controlul de calitate sub forma bias-ului, trebuie considerată în calculul incertitudinii, iar pentru aceasta se disting două cazuri:

- a) Valoarea raportată a mărimii măsurate nu este corectată cu valoarea deplasării D , iar această deplasare este introdusă în incertitudinea asociată mărimii măsurate x . Deplasarea este considerată ca o distribuție dreptunghiulară (tip B) iar incertitudinea standard introdusă se calculează cu relația (3.6)

$$u_D = D/\sqrt{3}$$

- b) Mărimea măsurată x este corectată cu $-D$ (corecția), deci valoarea raportată a mărimii măsurate și corectate, x_c , este egală cu $x_c = x + (-D)$, (sau dacă deplasarea are o valoare insignifiantă ($-D = 0$) raportarea este $x + (0)$). Dar și în acest caz, pentru inexactitatea inerentă produsă prin aplicarea corecției (care nu este perfectă), în estimarea incertitudinii (care se va asocia valorii mărimii corectate) se introduce (se estimează) un factor de incertitudine k (în Fig. 3.4-a este prin $s_{D(EE)}$)

$$u_D = k$$

3. *Incetitudinea introdusă de materialul de referință u_r* (utilizat pentru determinarea exactității). Se utilizează incertitudinea pentru materialul de referință dacă aceasta se specifică în certificatul său. Dacă pentru materialul de referință se specifică o distribuție rectangulară de probabilitate pe intervalul $\Delta (= 2a)$ egal cu diferența între limita superioară și cea inferioară, $\Delta = (V_{Rmax} - V_{Rmin})$, atunci incertitudinea, de tip B, se calculează cu relația (3.6) în felul următor

$$u_r = \Delta/\sqrt{12} = 2a/(2\sqrt{3}) = a/\sqrt{3}$$

În cazul când pentru determinarea exactității se utilizează ser de control pot apărea două situații de calcul pentru componenta de incertitudine u_r .

Prima, când în prospectul serului de control se specifică abaterea standard, SD , atunci $u_r = SD$.

A doua situație apare când în prospectul serului de control se specifică, de cele mai multe ori, doar două limite (V_{min} , V_{max}), care sunt utile pentru

controlul corectitudinii funcționării automatului. Utilizarea acestui interval ($\Delta = V_{max} - V_{min}$, assayed value range) și pentru calculul abaterii standard, după relația (3.6), este corectă numai dacă serul de control are o distribuție rectangulară în acest interval; calculată incertitudinea u_r , după relația (3.6), în general, produce valori exagerat de mari.

Trebuie studiat prospectul pentru a se identifica dacă fabricantul a fixat limitele de control (intervalul de control Δ) în funcție de abaterea standard SD a serului de control, atunci dacă există o astfel de relație între Δ și SD se poate calcula valoarea lui $SD (= u_r)$. De exemplu, pentru serurile de control PerciControl U1-176103 și PerciControl U1-176100 există relația $\Delta = 6 \cdot SD$ (limitele de control fixate la $\pm 3\sigma$), deci $u_r = \sigma = \Delta/6$.

Dacă datele pentru evaluarea componentei de incertitudine, u_r , ale materialului folosit ca material de referință nu prezintă încredere, atunci se recomandă ca această componentă, calculată cu astfel de date, să nu fie luată în considerare pentru estimarea incertitudinii compuse (și să se specifice aceasta). Totuși, orientativ, o contribuție a materialului de referință $< 33\%$, în componența lui u_c , se poate considera ca fiind o valoare rezonabilă [23].

4. *Diversi factori de incertitudine.* Alți factori care pot intra în estimarea valorii incertitudinii de măsurare pot fi: neliniaritatea curbei de calibrare în domeniul de lucru (u_l), interferențe/contaminare (u_i), efecte de matrice (u_m) etc. Incertitudinea u_f asociată acestor factori, se consideră numai pentru anumite probe sau/și sub anumite condiții specifice, se calculează cu relația

$$u_f^2 = u_l^2 + u_i^2 + u_m^2 + \dots$$

De cele mai multe ori efectul acestor factori se neglijează, deci $u_f = 0$.

Incetitudinea compusă u_c se calculează cu relația (3.10) și se obține

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + u_{et}^2 + u_D^2 + u_r^2 + u_f^2} \quad (3.22)$$

În general, componentele cu ponderea cea mai mare, în estimarea incertitudinii de măsurare, sunt u_{et} și u_r . Incertitudinea extinsă U , pentru nivelul de încredere 95% ($k = 2$) este $U = 2 \cdot u_c$, iar rezultatul R se exprimă

$$R = x \pm U \quad [\text{unități}] \quad (\text{pentru } k=2)$$

Exemplul 3.10 Pentru estimarea incertitudinii de măsurare a concentrației calciului CCa , pe un analizor OLIMPUS, se cunosc următoarele date:

- reproductibilitatea internă, $s(x) = 0,212 \text{ mg/dL}$ (din baza de date pentru controlul intern de calitate);

- deplasarea, $D = 0,2$ mg/dL (din baza de date pentru controlul intern de calitate);
- concentrația medie măsurată $c_{Ca} = 9,45$ mg/dL (din baza de date pentru controlul intern de calitate);
- pentru serul de control utilizat ca material de referință, din certificat, se citesc: valoarea țintă $9,65$ mg/dL, $SD = 0,15$ mg/dL, deci $u_r = 0,15$ mg/dL
- în certificatul de etalonare se specifică incertitudine extinsă de etalonare $U_{et} = 0,5$ mg/dL (pentru $k = 2$).

Utilizând relația (3.22) se calculează incertitudinea compusă

$$u_c(c_{Ca}) = \sqrt{0,212^2 + \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 + \left(\frac{0,2}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,15)^2} = 0,3785 \text{ mg/dL}$$

iar incertitudinea extinsă $U_{Ca} = 2 \cdot 0,3785 = 0,757$. Rezultatul se raportează în valori:

absolute $c_{Ca} = 9,45 \pm 0,76$ [mg/dL] (pentru $k = 2$)

relative $c_{Ca} = 9,45 \pm 8,04\%$ [mg/dL] (pentru $k = 2$)

Bugetul de incertitudine

Simbol	Componentă	Unitate de măsură	Tip incert.	Incetitudinea standard	Contribuția componentei
S_p	Precizia	[mg/dL]	Tip A	0,212	31,35%
D	Exactitatea	[mg/dL]	Tip B	$0,2/\sqrt{3}$	9,32%
MR	Materialul de referință	[mg/dL]	Tip B	0,15	15,73%
E_t	Etalonarea	[mg/dL]	Tip B	$0,5/2$	43,49%
$u_c(c_{Ca})$	Concentrație Calciu	[mg/dL]		0,378	

3.3.2 Estimarea incertitudinii de măsurare din compararea interlaboratoare

În biologia medicală, cu rare excepții, eșantioane racordate/trasabile metrologic la etaloanele internaționale (materiale de referință certificate, CRM) nu există, deci, în sens strict, nu se poate vorbi de valoare adevărată, în consecință, la fel, și pentru determinarea exactității. Utilizarea serului de control (pentru sistemele închise) este doar un "paliativ". Inexistența practică, încă, a unor valori de referință certificate determină ca pentru evaluarea exactității (deplasării) să se apeleze la comparații interlaboratoare. Pentru evaluările externe interlaboratoare se utilizează materiale de referință - a căror comutativitate a fost verificată și probată - și pentru care valoarea țintă reținută este media rezultatelor cumulate de ansamblul de utilizatori ai metodei pentru lotul în curs.

Având în vedere aceste dificultăți, cu privire la fixarea valorii adevărate, prezenta metodă pentru determinarea incertitudinii va aborda estimarea incertitudinii pentru componenta datorată repetabilității (preciziei/componenta aleatorie), la fel ca și la metoda anterioară (secțiunea 3.3.1), adică din datele cumulate în procesul de control intern de calitate (QC); dar pentru estimarea incertitudinii datorate componentei sistematice (exactitatea/deplasarea) se va utiliza datele obținute într-un proces de evaluare externă (EE) interlaboratoare (toate metodele). Modul de abordare prin această metodă este reprezentat în Figura 3.3.

Pentru un măsurand a cărui valoare citită este x , valoarea estimată/corectată

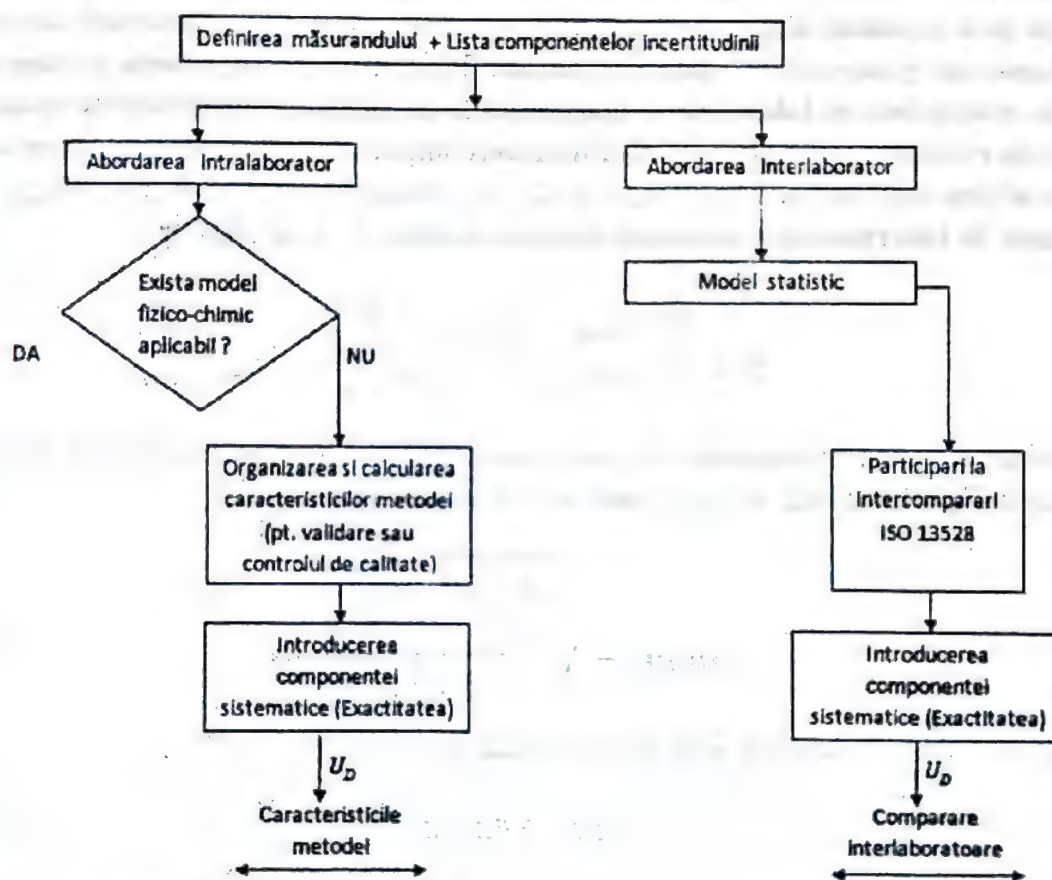


Figura 3.3 Calculul incertitudinii de măsurare pe baza datelor obținute prin controlul de calitate (intern) și din comparații interlaboratoare

tă, x_c , poate fi exprimată prin relația

$$x_c = x + C \quad (3.23)$$

în care C - este valoarea corecției (datorată deplasării/bias-ului, $C = -D$).

Incetitudinea compusă u_c , asociată valorii estimate x_c se obține cu relația

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + u_{D(EE)}^2} \quad (3.24)$$

în care

- u_p - este incertitudinea asociată preciziei (componența aleatorie) de măsurare și se determină pe baza reproductibilității interne (din baza de date obținută prin controlul intern de calitate) cu relația 3.21
- $u_{D(EE)}$ - este incertitudinea asociată estimării valorii corecției C și se determină pe baza procesului de intercomparări

Valoarea corecției, $C = -\bar{D}$, se determină pe baza datelor obținute în procesul de intercomparare în felul următor. Se consideră: X_{ref} - fiind valoarea țintă generată de coordonatorul procesului de intercomparații; X_{lab} - fiind valoarea rezultată prin măsurarea în laborator a materialului de referință distribuit de către coordonatorul procesului de intercomparări. Pentru intercompararea cu numărul i , prin măsurarea în laborator a materialului de referință distribuit și valoarea fixată de coordonatorul procesului de intercomparări, prin diferența între acestea se obține deplasarea $D_i = (X_{lab} - X_{ref})_i$. Pentru un șir de n intercomparări efectuate în laborator se calculează valoarea medie, \bar{D} , a deplasării

$$\bar{D} = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{lab} - X_{ref})_i}{n} = \frac{\sum_{i=1}^n D_i}{n} \quad (3.25)$$

Dispersia/varianța deplasărilor D_i , obținute de laborator, se exprimă prin abaterea standard experimentală, $s_{D(EE)}$, care se calculează prin relația

$$s_{D(EE)} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (D_i - \bar{D})^2}{n - 1}} \quad (3.26)$$

iar incertitudinea standard asociată estimării corecției este

$$u_{D(EE)} = s_{D(EE)} \quad (3.27)$$

Rezultă pentru valoarea corectată a măsurandului, relația (3.23), și pentru incertitudinea compusă asociată, relația (3.24), următoarele expresii

$$x_c = x + (-\bar{D}) \quad (3.28-a)$$

$$u_c(x) = \sqrt{u_p^2 + s_{D(EE)}^2} \quad (3.28-b)$$

Dacă valoarea măsurată nu este corectată, $C = 0$, atunci deplasare se introduce în valoarea incertitudinii, dar în locul valorii deplasării medii, \bar{D} , se va considera valoarea maximă a deplasării $\max|D_i|$. Această valoare maximă a deplasării este considerată ca având o distribuție dreptunghiulară de probabilitate, în consecință abaterea standard experimentală asociată deplasării se calculează cu relația (3.6), iar relațiile (3.28) se vor scrie:

$$x_c = x \quad (3.29-a)$$

$$u_c(x) = \sqrt{u_p^2 + \left(\frac{\max|D_i|}{\sqrt{3}} \right)^2} \quad (3.29-b)$$

Incertitudinea extinsă se calculează cu relația (3.19), $U = k \cdot u_c$, iar pentru nivelul de încredere (95%) coeficientul de extensie este $k = 2$; rezultă următoarea formă de raportare pentru mărimea măsurată

$$R = x \pm U \quad [\text{unități}] \quad (\text{pentru } k = 2)$$

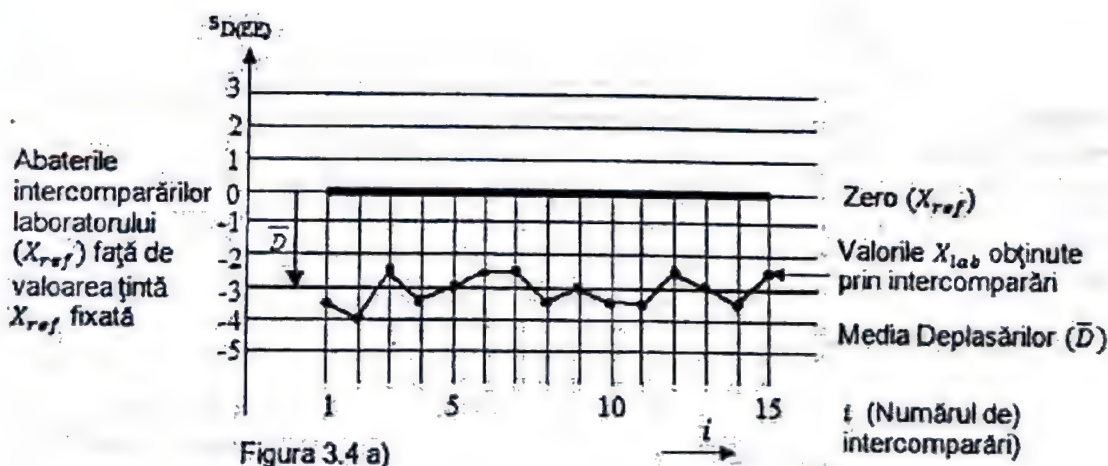
Se va prezenta în continuare trei cazuri uzuale în calculul de incertitudine.

Cazul 1. Se aplică corecție pentru rezultatul măsurat. Pentru datele reprezentate în Figura 3.4-a, obținute în urma unui număr de 15 intercomparări asupra aceluiași măsurand rezultă: $\bar{D} = -3$, ($C = 3$); deci valorii mărimii măsurate i se va aplica corecția C ,

$$x_c = x + C$$

iar incertitudinea, calculată cu relația (3.26), este

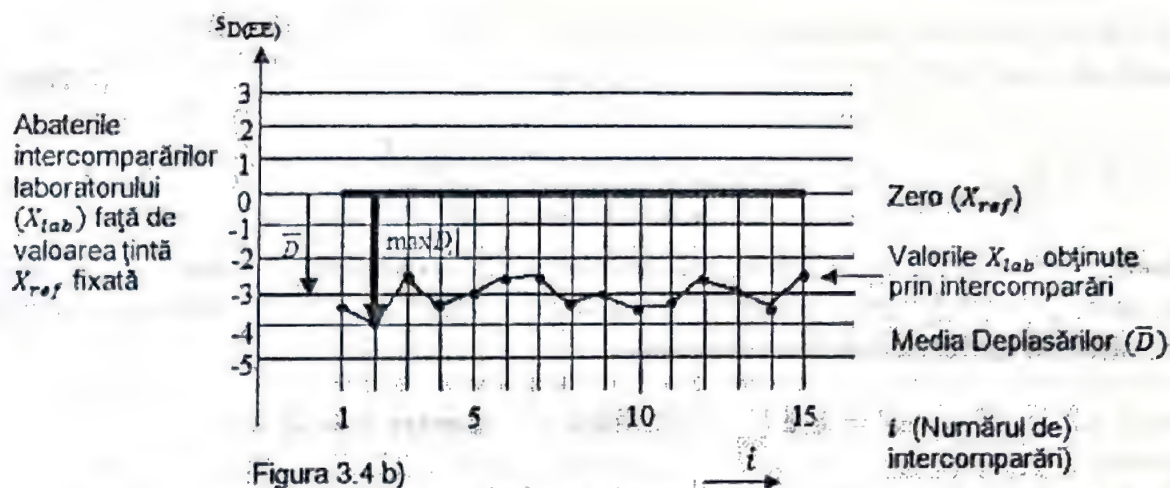
$$s_{D(EE)} = u_{D(EE)} = 0,36.$$



Cazul 2. Nu se aplică corecție pentru rezultatul măsurării, deplasarea se introduce în valoarea incertitudinii, dar nu se introduce valoarea medie a deplasării ci valoarea maximă $\max|D_i|$ obținută pentru deplasare. Pentru datele reprezentate în Figura 3.4-b, obținute în urma unui număr de 15 intercomparări asupra aceluiași măsurand

rezultă: $\max D_i = -3,7$; ($C = 0$); deci estimarea mărimii măsurate este chiar valoarea măsurată,

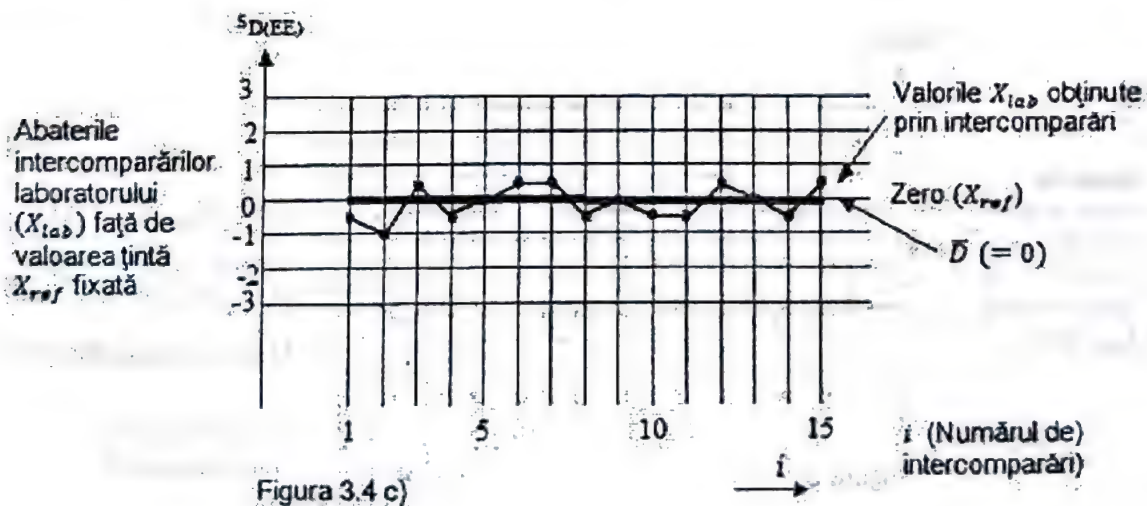
$$x_c = x$$



iar incertitudinea este

$$s_{D(E)} = u_{D(E)} = \frac{\max|D_i|}{\sqrt{3}} = \frac{|-3,7|}{\sqrt{3}} = 2,136$$

Cazul 3. Nu se aplică corecție pentru că valoarea medie, \bar{D} , a deplasării, este zero sau are o valoare neglijabilă (deci poate fi considerată zero). Valoarea maximă a deplasării, $\max D_i$, se introduce în incertitudine. Pentru datele reprezentate în Figura 3.4-c, obținute în urma unui număr de 15 intercomparări asupra aceluiași măsurand



rezultă: $\bar{D} \approx 0$; ($C = 0$); $\max D_i = -0,7$; deci estimarea mărimii măsurate este

$$x_c = x + 0$$

iar valoarea incertitudinii rezultă

$$s_{D(E)} = u_{D(E)} = \frac{\max|D_i|}{\sqrt{3}} = \frac{|-0,7|}{\sqrt{3}} = 0,4$$

Exemplul 3.11 Un laborator inclus într-un proces de intercomparări pentru analiză de glucoză, (analiza s-a efectuat prin diferite metode - "toate metodele") a obținut datele prezentate în tabelul următor

Numărul de intercomparări, $n = 50$	Dimensiunea mmol/L
Valoarea medie a deplasării, \bar{D}	0,1242
Abaterea standard a deplasării, $s_{D(EE)}$	0,164826
Valoarea minimă a deplasării, $\min D_i$	-0,18
Valoarea maximă a deplasării, $\max D_i $	0,57
Diferența, $\max D_i - \min D_i$	0,75

iar abaterea standard experimentală pentru reproductibilitatea internă, $s(x)$, obținută din baza de date colectate din controlul de calitate intern are valoarea 0,12 mmol/L ($= u_p$). Se consideră nivelul măsurat de concentrație de glucoză de 6 mmol/L. Să se calculeze incertitudinea asociată și să se raporteze rezultatul măsurării.

1. Raportare cu aplicarea corecției

Rezultatul corectat: $x_c = x + C = 6 + (-0,1242) = 5,88$ [mmol/L]

Calculul incertitudinii compuse, u_c , conform relației (3.28-b):

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + s_{D(EE)}^2} = \sqrt{0,12^2 + 0,1648^2} = 0,203860344 \text{ [mmol/L]}$$

Incertitudinea extinsă, pentru $k = 2$:

$$U = k \cdot u_c = 2 \cdot 0,203860344 = 0,41 \text{ [mmol/L]}$$

Rezultatul raportat:

- în valoare absolută $R = 5,88 \pm 0,41$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)

- în valoare relativă $\left(\frac{0,41}{5,88} \cdot 100 = 6,7\% \approx 7\% \right)$
 $R = 5,88 \pm 7\%$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)

2. Raportare fără aplicarea corecției

Rezultatul corectat: $x_c = x + C = 6 + 0 = 6$ mmol/L

Calculul incertitudinii compuse, u_c , conform relației (3.29-b):

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + \left(\frac{\max |D_i|}{\sqrt{3}} \right)^2} = \sqrt{0,12^2 + \left(\frac{0,57}{\sqrt{3}} \right)^2} = 0,350285597 \text{ [mmol/L]}$$

Incertitudinea extinsă, pentru $k = 2$:

$$U = k \cdot u_c = 2 \cdot 0,350285597 = 0,70 \text{ [mmol/L]}$$

Rezultatul raportat:

- în valoare absolută $R = 6 \pm 0,70$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)

- în valoare relativă $\left(\frac{0,7}{6} \cdot 100 = 11,6\% \approx 12\%\right)$
 $R = 6 \pm 12\% \text{ [mmol/L]}, (\text{pentru } k = 2)$

Exemplul 3.12 Un laborator inclus într-un proces de intercomparări pentru analiză de glucoză, (analiza s-a efectuat prin aceeași metodă - "peer group") a obținut datele prezentate în tabelul următor,

Numărul de intercomparări, $n = 50$	Dimensiunea mmol/L
Valoarea medie a deplasării, \bar{D}	0,2328
Abaterea standard a deplasării, $s_{D(EE)}$	0,146914
Valoarea minimă a deplasării, $\min D_i$	-0,02
Valoarea maximă a deplasării, $\max D_i $	0,66
Diferența, $\max D_i - \min D_i$	0,68

iar abaterea standard experimentală pentru reproductibilitatea internă, $s(x)$, obținută din baza de date colectate din controlul de calitate intern are valoarea 0,12 mmol/L ($= u_p$). Se consideră nivelul măsurat de concentrație de glucoză de 6 mmol/L. Să se calculeze incertitudinea asociată și să se raporteze rezultatul măsurării

1. Raportare cu aplicarea corecției

Rezultatul corectat: $x_c = x + C = 6 + (-0,2328) = 5,77 \text{ [mmol/L]}$

Calculul incertitudinii compuse, u_c , conform relației (3.28-b):

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + s_{D(EE)}^2} = \sqrt{0,12^2 + 0,146914^2} = 0,189760375 \text{ [mmol/L]}$$

Incertitudinea extinsă, pentru $k = 2$:

$$U = k \cdot u_c = 2 \cdot 0,189760375 = 0,38 \text{ [mmol/L]}$$

Rezultatul raportat:

- în valoare absolută $R = 5,77 \pm 0,38 \text{ [mmol/L]}, (\text{pentru } k = 2)$

- în valoare relativă $\left(\frac{0,38}{5,77} \cdot 100 = 6,58\% \approx 7\%\right)$
 $R = 5,77 \pm 7\% \text{ [mmol/L]}, (\text{pentru } k = 2)$

2. Raportare fără aplicarea corecției

Rezultatul corectat: $x_c = x + C = 6 + 0 = 6 \text{ mmol/L}$

Calculul incertitudinii compuse, u_c , conform relației (3.29-b):

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + \left(\frac{\max |D_i|^2}{\sqrt{3}}\right)^2} = \sqrt{0,12^2 + \left(\frac{0,66}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0,399499687 \text{ [mmol/L]}$$

Incertitudinea extinsă, pentru $k = 2$:

$$U = k \cdot u_c = 2 \cdot 0,399499687 = 0,80 \text{ [mmol/L]}$$

Rezultatul raportat:

- în valoare absolută $R = 6 \pm 0,80$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)
- în valoare relativă $\left(\frac{0,8}{6} \cdot 100 = 13,3\% \approx 13\% \right)$
 $R = 6 \pm 12\%$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)

Pentru comparație rezultatele din Exemple 3.12 și 3.13 sunt prezentate în continuare

Intercomparație prin:

"toate metodele" "groupe de pairs (peer-group)/
aceeași metodă"

Raportare cu aplicarea corecției

Absolut: $5,88 \pm 0,41$ [mmol/L], (pentru $k = 2$) $5,77 \pm 0,38$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)
 Relativ: $5,88 \pm 7\%$ [mmol/L], (pentru $k = 2$) $5,77 \pm 7\%$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)

Raportare fără aplicarea corecției

Absolut: $6 \pm 0,70$ [mmol/L], (pentru $k = 2$) $6 \pm 0,80$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)
 Relativ: $6 \pm 12\%$ [mmol/L], (pentru $k = 2$) $6 \pm 13\%$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)

3.3.3 Estimarea incertitudinii cu calibrator trasabil

Joint Committee for Trasability in Laboratory Medicine (JCTLM) are ca obiectiv de a stabili o platformă mondială dedicată trasabilității în biologia medicală.

De asemenea, European Diagnostic Manufacturers Association (EDMA) a promovat deja [19] ca producătorii de aparatură de analiză de laborator, de fiecare dată când este posibil, să furnizeze/indice utilizatorului pentru etaloanele din trusa de lucru (calibratorii) și pentru materialele de controlul exactității (plasme, seruri, urine etc) la ce etalon de nivel superior sau la ce metodă de referință sunt trasabile, precum și incertitudinea de măsură asociată.

În viitor, existența unor calibratori de lucru trasabili va duce la o mult mai simplă estimare a incertitudinii. Pentru un calibrator trasabil se certifică o valoare ce este metrologic racordată(/trasabilă) la o referință/etalon, uzual un standard național sau internațional, iar acestei valori a calibratorului îi este asociată o incertitudine (corespunzătoare unui nivel de încredere), u_{cal} , vezi Anexa 5. Prin calibrare, cu calibratorul de lucru trasabil (etalonare!), bias-ul este compensat sau are o valoare insignifiantă încât poate fi neglijat, $D = 0$, deci componenta sistematică intervine în incertitudinea compusă numai prin u_{cal} . În aceste condiții, incertitudinea de măsurare pentru metoda analitică se calculează cu relația

$$u_c = \sqrt{u_{cal}^2 + u_{met}^2 + u_f^2} \quad (3.30)$$

Incetitudinea datorată metodei, u_{met} , integrează toate sursele de incertitudine prezente în metoda analitică. Aceste surse determină variabilitatea metodei și pot

fi cuprinse în precizia procesului de măsurare, în consecință pot fi cuantificate prin abaterea standard experimentală pentru precizia intermediară, $s(x)$, deci

$$u_{\text{met}} = s(x) \quad (3.31)$$

valoare ce se obține din baza de date pentru controlul intern de calitate.

Componenta u_f ia în considerare diverși factori de incertitudine, în general se consideră egală cu zero (vezi relația 3.22).

Exemplul 3.13 Pe un analizor multiparametric sunt efectuate analize de Colesterol. Calibratorul de lucru, furnizat de producător, care este trasabil la etalonul internațional NIST 909S, are valoarea certificată de $3,40 \text{ mmol/L} \pm 0,06 \text{ mmol/L}$ pentru $k = 2$ (deci $u_{\text{cal}} = 0,06/2 = 0,03$). Laboratorul utilizează doua seruri de control pentru care prin controlul de calitate zilnic, pe o perioadă de un an, s-a obținut valorile medii de 4,2 și 6,2 mmol/L. Din baza de date, pentru serul de control cu valoarea mai mare, se calculează abaterea standard $s(x) = 0,18 \text{ mmol/L}$, iar $CV = 2,9\%$. Conform relației (3.30) rezultă incertitudinea compusă

$$u_c = \sqrt{0,03^2 + 0,18^2} = 0,183 \text{ mmol/L}$$

pentru $k = 2$ incertitudinea extinsă este $U = 2 \cdot 0,183 \approx 0,4 \text{ mmol/L}$. Dacă pentru un pacient se măsoară o valoare de 5,82 mmol/L, atunci rezultatul raportat este: $5,8 \pm 0,4 \text{ mmol/L}$.

3.3.4 Utilizarea incertitudinii raportate pentru interpretarea clinică

Din punct de vedere analitic rezultatul unei analize/măsurări de laborator se raportează sub formă absolută $Y = y \pm U$, sau relativă $Y = y \pm (U\%)$, în care $U = k \cdot u_c$, uzual $k = 2$ pentru nivelul de încredere 95,4%, cu următoarea interpretare: cea mai bună estimatie a măsurandului este y dar, valoarea reală se află în intervalul $y - U \leq Y \leq y + U$ cu o probabilitatea de 95,4%. Incertitudinea asociată unui rezultat al măsurării nu este, în mod necesar, o indicație a faptului că rezultatul măsurării este cu adevărat aproape de valoarea măsurandului, incertitudinea este doar o estimare a apropierei credibile a rezultatului măsurării de cea mai bună valoare, în concordanță cu cunoștințele de care se dispune în acel moment. Rezultatul unei analize (după corectarea cu componenta sistematică, bias-ul) poate fi, fără să se știe, foarte aproape de valoarea măsurandului (și poate deci să aibă o eroare de valoare neglijabilă) deși, poate avea asociată o incertitudine ridicată (din acest punct de vedere incertitudinea de măsurare asociată unui rezultat un trebuie confundată cu eroarea reziduală necunoscută).

Din punct de vedere clinic rezultatul raportat al unei analize medicale poate fi interpretat/comparat în următoarele trei variante:

- cu rezultatele anterioare ale pacientului;
- cu un interval de referință;
- cu un prag de decizie clinic,

dar, o interpretare corectă poate fi realizată doar dacă se ia în considerare incertitudinea asociată valorii raportate a măsurandului. În funcție de sursa datelor trebuie să se țină cont dacă analiza de comparat se compară cu date obținute prin aceeași metodă în același laborator sau cu date obținute în laboratoare diferite.

A. Compararea analizei cu date obținute în același laborator.

În cazul când rezultatele unei analize sunt interpretate în raport cu rezultatele aceluiași pacient, cu intervale de referință sau cu valori de prag clinic obținute prin aceeași metodă în același laborator, incertitudinea de măsurare trebuie să cuprindă doar componenta aleatorie (precizia) nu și componenta sistematică (exactitatea). Eliminarea componentei sistematice din calculul incertitudinii de măsurare compuse este corectă, deoarece această componentă intră cu aceeași valoare atât în valoarea incertitudinii atașată mărimii care se compară cât și în valorile incertitudinii atașate mărimilor cu care se compară (evident se presupune că nu s-a modificat componenta sistematică a metodei de măsurare între momentele obținerii celor două valori). În acest caz, deoarece componenta sistematică este eliminată, rezultă că incertitudinea extinsă, u_c , este egală numai cu $\pm 1,96 SD$ (sau $\pm 1,96 CV$); abaterea standard SD fiind obținută din precizia intermediară (controlul intern de calitate). Practic, valoarea analizei unui pacient se compară:

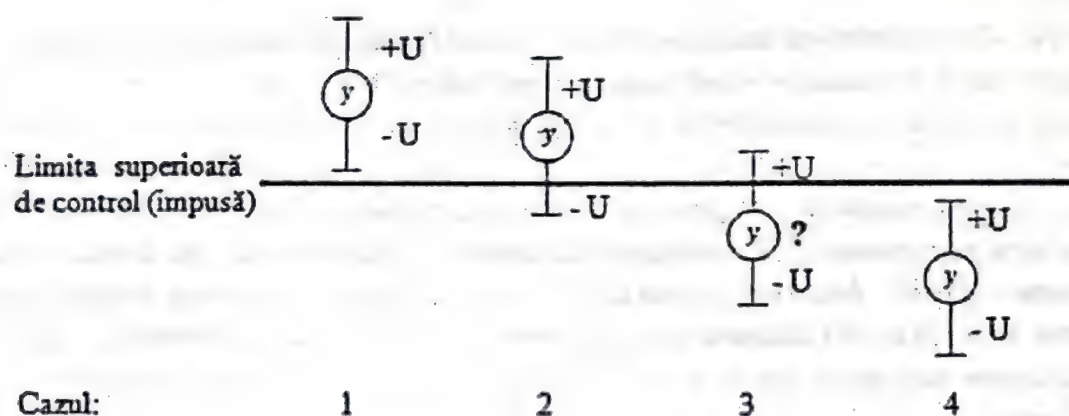
1. Cu o valoare anterioară a aceluiași pacient. Luând în considerare numai dispersia procesului de măsurare (dispersia analitică) se poate explica diferența între valorile celor două analize. Această diferență poate fi datorată fie doar incertitudinii de măsurare sau fie faptului că cele două valori indică chiar măsurări diferite obținute prin aceeași metodă de măsurare. Utilizând relația limitei de repetabilitate, relația 2.19, se poate evalua natura diferenței. Dacă cele două valori de analize, ale aceluiași pacient, sunt separate cu o diferență mai mare decât limita de repetabilitate ($\sqrt{2} \cdot 1,96 \cdot SD = 2,77 \cdot u_c$) atunci, cu o probabilitate de 95%, cele două analize reflectă o modificare în proba pacientului, deci din punct de vedere analitic sunt diferite. Dar, dacă diferența este mai mică decât limita de repetabilitate atunci această diferență este datorată doar incertitudinii de măsurare (vezi Exemplul 3.14-1-a).

Dacă la compararea celor două analize, în afară de variabilitatea analitică, se ia în considerare și variabilitatea biologică CV_I (inter-individual, vezi pagina 59) atunci limita de repetabilitate se exprimă sub forma:

$2,77\sqrt{CV^2 + CV_I^2}$. Cele două analize ale aceluiași pacient exprimă, cu o probabilitate de 95,4%, că starea pacientului s-a modificat numai atunci

când diferența valorilor este mai mare decât $2,77\sqrt{CV^2 + CV_I^2}$, vezi Exemplul 3.14-1-b și 3.15. (Trebuie specificat faptul că, acest calcul se bazează pe presupunerea că variabilitatea intra-individual pentru starea de sănătate este identică cu variabilitatea pentru starea de bolnav, presupunere pentru care în prezent există puține evidențe).

2. Cu o valoare de referință. Cazurile de comparare cu o limită superioară impusă (care este o valoare exactă) sunt prezentate în figura următoare, pentru o conformitate cu o limită inferioară se analizează în mod asemănător.



Deoarece valoarea de referință nu are dispersie (este o valoare exactă/fixă), deci expresia distanței minime dintre valoarea de referință și valoarea de comparat este egală cu $2 \cdot u_c$ (și nu $\sqrt{2} \cdot 1,96 \cdot u_c$), în consecință, dacă valoarea distanței U , din această figură este mai mică decât $2 \cdot u_c$ atunci rezultatul analizei nu poate fi considerat decât informativ, cazul 3. Cazurile 1 și 2 sunt neconformități clare, iar cazul 4 arată o conformitate realizată.

B. Compararea analizei cu date obținute în laboratoare diferite.

Dacă valorile unei analize sunt interpretate în raport cu rezultate, intervale de referință sau prag de decizie clinic determinate în alte laboratoare atunci în estimarea incertitudinii asociată mărimii de comparat trebuie introdusă și componenta sistematică. Pentru compararea cu o valoare anterioară a aceluiași pacient sau pentru compararea cu o valoare de referință modalitățile de analiză sunt similare cu cele descrise anterior la punctul A, dar valoarea incertitudinii cuprinde și componenta sistematică.

Exemplul 3.14 [11] Analiza PSA pentru un pacient este de $4,2 \mu\text{g/L}$; aceeași analiză a pacientului, efectuată cu 12 luni în urmă, a fost de $3,8 \mu\text{g/L}$.

1. Este PSA-ul crescut?

Soluție: Se consideră că analizele au fost efectuate în același laborator, deci în calculul incertitudinii nu s-a introdus bias-ul, evident dacă între timp nu au apărut schimbări ale valorii bias-ului laboratorului (la fiecare calibrare bias-ul este adus la aceeași valoare, care la o calibrare perfectă, cu un calibrator ideal, este neglijabilă sau chiar zero). Incertitudinea de măsurare compusă u_{cPSA} a laboratorului pentru PSA la concentrația de 2,9 $\mu\text{g/L}$ este $u_{cPSA} = 0,15 \mu\text{g/L}$, sau în valori relative $u_{cPSA} = (0,15/2,9) \cdot 100 = 5,0\% (= CV)$.

1-a. Se consideră numai dispersia datorată metodei de analiză (variabilitatea analitică).

- Diferența Δ între valorile celor două analize este:

$$\Delta = 4,2 - 3,8 = 0,4 \mu\text{g/L} \text{ sau procentual } \Delta = (0,4/3,8) \cdot 100 = 10,5\%$$

- Limita de repetabilitate a procesului de măsurare pentru un nivel de încredere de 95% este:

$$r = \sqrt{2} \cdot 1,96 CV = 2,77 \cdot 5\% = 14\%, \text{ sau în valori absolute } r = \sqrt{2} \cdot 1,96 \cdot u_{cPSA} = 0,53 \mu\text{g/L}$$

Din punct de vedere al dispersiei procesului de măsurare rezultă că analiza recentă ar putea fi, cu un nivel de încredere de 95%, chiar de valoarea $3,8 + 0,53 = 4,33 \mu\text{g/L}$ și tot să nu fie considerată diferită față de analiza de $3,8 \mu\text{g/L}$, efectuată cu un an în urmă.

- Pentru un nivel de încredere de 99% limita de repetabilitate are valoarea

$$r_{99} = \sqrt{2} \cdot 2,58 CV = 3,65 \cdot 5\% = 18,3\%, \text{ sau în valori absolute } r = \sqrt{2} \cdot 2,58 \cdot u_{cPSA} = 0,7 \mu\text{g/L}$$

deci analiza recentă ar putea fi $3,8 + 0,7 = 4,5 \mu\text{g/L}$ fără a fi considerată diferită de $3,8 \mu\text{g/L}$.

Concluzia dată de laborator în urma comparării se poate exprima "din punct de vedere al variației de măsurare (variația analitică), cu un grad de încredere de 95%, cele două analize nu sunt semnificativ diferite".

1-b. Se consideră atât dispersia de măsurare (variabilitatea analitică) cât și variația biologică (variabilitatea biologică). Coeficientul de variabilitate biologică are valoarea $CV_I = 14\%$ [10].

- Limita de repetabilitate, pentru nivelul de încredere de 95%, se calculează cu o relație în care se introduce și CV_I pe lângă CV în felul următor:

$$r = \sqrt{2} \cdot 1,96 \cdot \sqrt{[(CV)^2 + (CV_I)^2]} = 2,77 \cdot \sqrt{[5,0^2 + 14,0^2]} = 2,77 + 14,87 = 41,2\%$$

sau în valori absolute $(3,8 \cdot 41,2)/100 = 1,57 \mu\text{g/L}$.

Din punct de vedere al dispersiei procesului de măsurare și al variației biologice, la un nivel de încredere de 95% rezultă că analiza recentă ar fi putut avea valoarea de $3,8 + 1,57 = 5,37 \approx 5,4 \mu\text{g/L}$ fără a putea fi considerată semnificativ diferită de cea de $3,8 \mu\text{g/L}$, efectuată cu un an în urmă.

Concluzia comparării dată de laborator se poate exprima *"din punct de vedere al variației de măsurare și a variației biologice, cu un grad de încredere de 95%, cele două analize nu sunt semnificativ diferite"*.

Exemplul 3.15 Pentru o analiză de fosfatază alcalină, efectuată cu două zile în urmă, a fost o valoare de 95 U/L, iar astăzi aceeași analiză, pentru același pacient, tot în acest laborator, a rezultat o valoare de 108U/L. Sunt cele două analize diferite ?

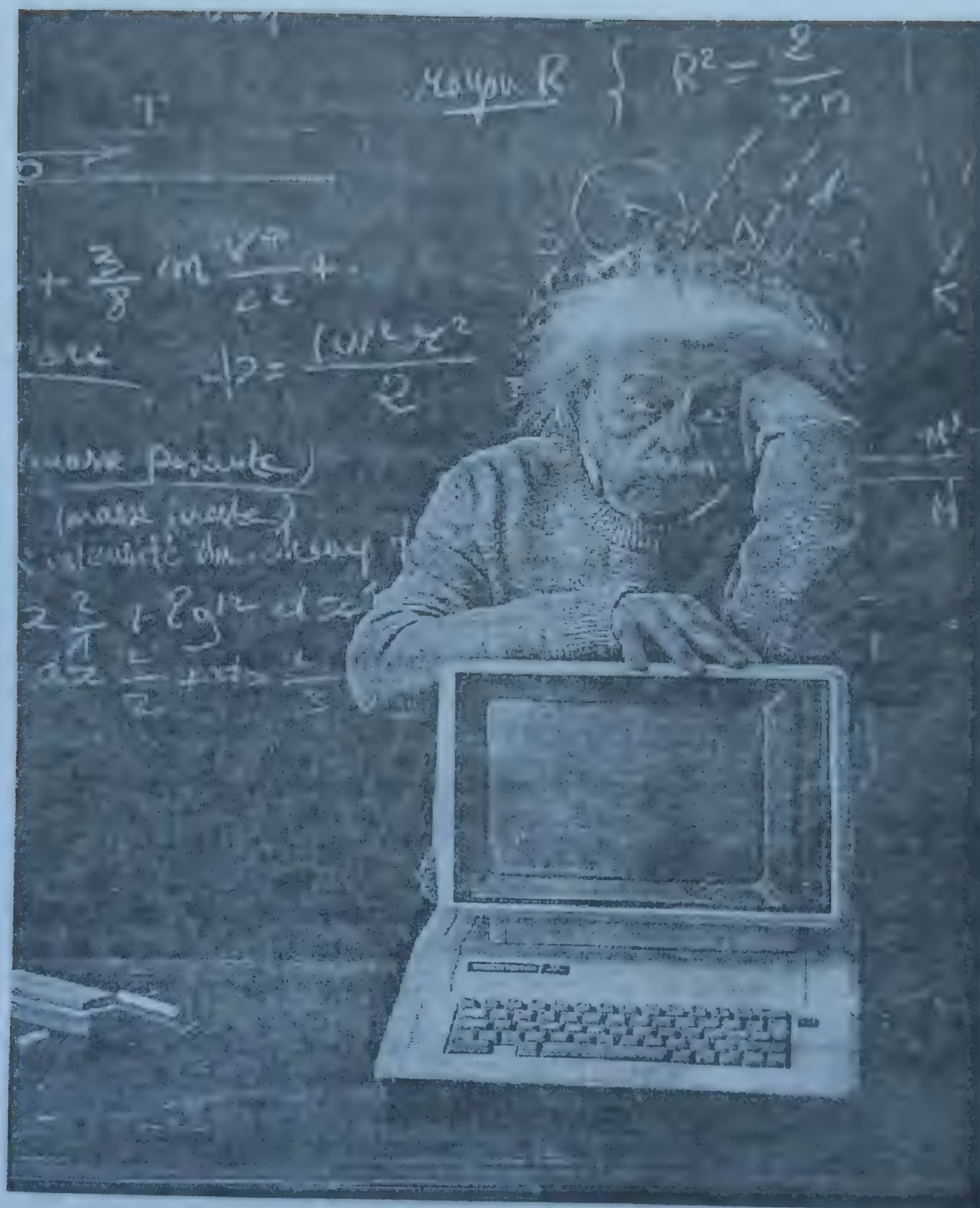
Soluție: Imprecizia de măsurare a laboratorului, rezultată din baza de date a controlului intern de calitate exprimată sub forma coeficientului de variație la valoarea de 87UM/L, este $CV = 1,45\%$. Variabilitatea biologică exprimată prin coeficientul CV_I are valoarea $CV_I = 6,4\%$ [10]. Luând în considerare atât variabilitatea biologică precum și cea analitică rezultă valoarea coeficientului de repetabilitate

$$r = \sqrt{2} \cdot 1,96 \cdot \sqrt{CV^2 + CV_I^2} = 2,77 \sqrt{1,45^2 + 6,4^2} = 18,3\%$$

Valoarea maximă pe care o poate avea cea de-a doua analiză (cu o probabilitate de 95%), fără a se considera că cele două analize sunt diferite, este de:

$$95U/L + (95U/L \cdot 18,3\%) = (95 + 17,4)U/L = 112U/L.$$

În concluzie, cele două analize, de 95U/L și de 108U/L, sunt diferite din punct de vedere analitic, dar cu o probabilitate de 95% nu și din punct de vedere biologic.



Bibliografie

- [1] "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement". - *EURACHEM/ CITAC Guide*, second edition.
- [2] GUM ("Guide to the Expression of the Uncertainty in Measurement ENV 13005"), (în limba română SR ENV 13005, se poate procura de la Camerele de Comerț).
- [3] "The Fitness for Purpose of Analytical Methods". - *EURACHEM/ CITAC Guide*.
- [4] "Les Contrôles de la Qualité Analytique en biologie Médicale". - *COFRAC, Document LAB GTA 06*. <http://www.cofrac.fr/doc/doc1/1-laboarttoares/>.
- [5] "Guide de la Validation des Méthodes en Biologie Médicale". - *COFRAC, Document LAB GTA 06*. <http://www.cofrac.fr/doc/doc1/1-laboarttoares/>.
- [6] "Guide d'Évaluation des Incertitudes de Mesures des Analyses en Biologie médicale". - *COFRAC, Document LAB GTA 14*. <http://www.cofrac.fr/doc/doc1/1-laboarttoares/>.
- [7] David Iulia Gabriela; Radu Lucian-Gabriel. *Validarea metodelor (Bio) analitice*. Editura Printech, București, 2006.
- [8] Lyons Mike. *Analytical Chemistry*. Trinity college Dublin, 2005.
- [9] Clinical Laboratory Improvement Amendments. www.cms.hhs.gov/CLIA/.
- [10] <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>.
- [11] "Requirement for the Estimation of Measurement Uncertainty". Australian Government Dept. Of Health and Ageing, 2007 Edition.
- [12] COFRAC. Comité Français d'Accréditation. www.cofrac.fr.
- [13] ILAC. International Laboratory Accreditation Co-operation. www.ilac.org.

- [14] RENAR. Asociația de Acreditare din România. www.renar.ro.
- [15] C. Ricos et al. "Current Database on Biological Variation: Pros, Cons and Progress". pages 491-500, Scandinavian Journal of Clinic Lab. Invest, 1999.
- [16] Expression of Uncertainty of Measurement in Clinical Laboratory Medicine (c51). <http://www.clsi.org>.
- [17] A. Vassault et al. "Analyses de biologie medicale: specifications et normes d'acceptabilite a l'usage de la validation de techniques".
http://www.jle.com/fr/revues/bio_rech/abc/e-docs/00/00/C4/OC/article.md?type=text.html.
- [18] C. Giroud et al. "Recommandations relatives a l'expression de l'incertitude de mesure des resultats quantitatifs en biologie mdicale (Document F)". Ann. Biol. Clin., vol. 65, no.2, mars-avril 2007. http://www.jle.com/fr/revues/bio_rech/abc/e-docs/00/04/2C/31/article.md?type=text.html.
- [19] "Estimation of Uncertainty of Measurement in Medical Laboratoies". www.edma-ivd.be.
- [20] "Conversion Between SI units". <http://www.cja-jca.org/cgi/reprint/29/4/414.pdf>.
- [21] James O. Westgard. *"Basic Method Validation - Training in Analitical Quality Management for Healthcare Laboratories"*. Westgard QC, Inc., ISBN 1-886958-19-X, second edition, 2003.
- [22] James O. Westgard. *"Assuring the Right Quality Right - Good Laboratory Practices for Verifying the Attainment of the Intended Quality of the Test"*. Westgard QC, Inc., ISBN 1-886958-24-6, 2007.
- [23] "The Selection and Use of Reference Materials". EA-04/14. <http://www.european-accreditation.org/n1/doc/ea-4-14.pdf>.
- [24] CLSI C24-A3. "Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; Approved Guideline". Third Edition. www.clsi.org/source/orders/free/c24-a3.pdf.
- [25] Philippe Marquis. "Le Control de la Qualite au Laboratoire de Biologie Clinique". www.multipqc.com.

PAGINI WEB UTILE

IFCC. International Federation of Clinical Chemistry. www.ifcc.org

FDA. Food and Drug Administration. www.fda.org

NIST. National Institute of Standards and Technology (NIST)
www.cstl.nist.gov

AACC. American Association of Clinical Chemistry. www.aacc.org

Clinical Chemistry. www.clinchem.org

Clinical Laboratory News. <http://www.aacc.org/AACC/publications/cln>

WESTGARD. (Abundante informacion sobre control de calidad y validacion de metodos) www.westgard.com

PAHO. Panamerican Health Organisation www.paho.org

WHO. World Health Organisation. www.who.org

CLSI. Clinical Laboratory Standards Institute. www.clsi.org (nota: este sitio contiene guias de trabajo para el laboratorio clinico de gran utilidad que deben ser adquiridas por medio de un pago)

CAP. College of American Pathologists. www.cap.org (Contiene listas de verificacion para las distintas areas del laboratorio clinico)

CLIA. Clinical Laboratory Improvement Amendments.
<http://www.cdc.gov/clia/>

EURACHEM. <http://www.eurachem.org/>

LISTĂ DE DOCUMENTE DIN BIBLIOTECA IAAC, PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

(InterAmerican Accreditation Cooperation)

(Author: Silvia Depardo. Organismo Argentino de Acreditacio)

ISO 15189-Accreditation

- 150412200400.pdf ISO15189, the Standard for Accreditation in Laboratory Medicine - 2004
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200400.htm>
- 150412200402.pdf ISO 15189:2003 - From Theory Into Practice - 2004.
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200402.htm>
- 150412200403.pdf Practical Application of ISO 15189 by accreditation bodies - A Comparison with ISO/IEC 17025 - 2004
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200403.htm>
- 150412200404.pdf Pre and Post Examination Aspects - 2004
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200404.htm>
- 150412200405.pdf ISO 15190:2003 Medical Laboratories - Requirements for Safety - 2004
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200405.htm>
- 150412200406.pdf ISO 15189:2003 - Its importance for the enlarged Europe - 2004
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200406.htm>
- 150412200407.pdf ISO 15189:2003 and evidence based laboratory medicine - 2004
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200407.htm>
- 734413.ILAC_UNIDO_publication_(Web).pdf Laboratory Accreditation in Developing Economies. Working paper No.2 ILAC-UNIDO 2003
<http://www.unido.org/file-storage/download/?file%5fid=55885>
- Accreditation.pdf Principles of clinical laboratory accreditation - IFCC
www.ifcc.org
- OPS-CGC-Completo.pdf Curso de Gestion de calidad para laboratorios
<http://www.paho.org/Spanish/AD/THS/EV/labs-CGC.htm>
- OGC004.pdf interpretativo da ISO 15189 ogc004 , 2006. IPAC
<http://www.ipac.pt/docs/publicdocs/OGC004.pdf>

BIOSECURITY

- lab-biosafety_omsspa.pdf Manual de Bioseguridad para laboratorios - OMS
http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/lab-biosafety_omsspa.pdf
- LAB-Cabinas_bioseguridad.pdf Cabinas de seguridad biologica: uso, desinfeccion y mantenimiento-PAHO
http://www.paho.org/Spanish/AD/THS/EV/LAB-Cabinas_bioseguridad.pdf
- labtransporte2005esp.pdf Guia sobre la reglamentacion relativa al transporte de sustancias infecciosas -PAHO
<http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/labtransporte2005esp.pdf>

EQUIPMENT

- lab_manual-mantenimiento.pdf Manual de mantenimiento para equipo de laboratorio. Washington DC -OPS-2005
http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/lab_manual-mantenimiento.pdf
- pt050122.pdf Qualification of Analytical Instruments for Use in the Pharmaceutical Industry: A Scientific Approach. *AAPS PharmSciTech* 2004; 5 (1) Article 22
<http://www.aapspharmscitech.org/articles/pt0501/pt050122/pt050122.pdf>

VALDATION

- 4252fml.pdf Bioanalytical Method Validation U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. May 2001
<http://www.fda.gov/cder/guidance/4252fml.pdf>
- EParticle0806lab_mgmt_CLSI.pdf Tholen D: CLSI evaluation protocols. *Med Lab Obs.* Aug 2006
http://www.clsi.org/Content/NavigationMenu/Home/Homecontent/EParticle0806lab_mgmt_CLSI.pdf

PREANALYTICAL AND POSTANALYTICAL PROCEDURES

- 1301200107.pdf Preanalytical Variables and Their Influence on the Quality of Laboratory Results, Narayanan S, Guder WG, *eJIFCC* vol 13 no1:
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no1/1301200107.htm>
- 140310200302.pdf The Importance of Preanalytical Factors in Immunodiagnostic Testing:
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol14no3/140310200302n.htm>
- 150412200404.pdf Pre and Post Examination Aspects 2004; 15(4)
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200404.htm>
- Errores - laboratory medicine.pdf Bonini P, Plebani M., Ceriotti F, Rubboli F: Errors in Laboratory Medicine. *Clin Chem* 2002; 48: 691-698
<http://www.clinchem.org/cgi/reprint/48/5/691>
- Laboratory_Errors_P_Howanitz_Archives.pdf Howanitz J.P: Errors in Laboratory Medicine. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine.* 2005; 129:1252-1261.
[http://arpa.allenpress.com/pdfserv/10.10432F1%543-2165\(2005\)1295B12%52:EILMP L5D2.0.CO%3B2](http://arpa.allenpress.com/pdfserv/10.10432F1%543-2165(2005)1295B12%52:EILMP L5D2.0.CO%3B2)

QUALITY ASSURANCE

- Total Quality Management for Laboratories Gabriele Mallapaty, 2001, *The Public Health Care Laboratory*
<http://www.phclab.com/TQM/TQMhome.htm>
- QA Training Programme.pdf Quality Assurance Training Programme for Primary Health-care Laboratory Services Gabriele Mallapaty, 2000, *The Public Health Care Laboratory*
Quality assurance, training programs
<http://www.phclab.com/images/QA%20Training%20Programme.pdf>

The Role of Total Quality Management in Raising the Service Quality of Public Health Laboratories in Developing Countries *Gabriele Mallapaty, 1999, The Public Healthcare Laboratory*
<http://www.phclab.com/images/Thesis.pdf>

EQAS

EQAP_version_3-2002.pdf Guidelines for the Requirements for the Competence of EQAP organizers in medical laboratories- IFCC/EMD/C-AQ
http://www.ifcc.org/index.php?option=com_remository&Itemid=120&func=fileinfo&id=20

Fundamentals-for-EQA.pdf Fundamentals for EQA. IFCC . 2006
http://www.ifcc.org/index.php?option=com_remository&Itemid=120&func=fileinfo&id=21

QUALITY CONTROL

1715.pdf Fuentes-Arderiu X, Mir-Balagu J, Hyltoft Petersen P, G. Fraser CG: State of the Art Instead of Biological Variation to Set Requirements for Imprecision. *Clin Chem* 2000;46: 1715-1717.
<http://www.clinchem.org/cgi/reprint/46/10/1715>

qualityControl2006.pdf Westgard J. Quality Control How Labs Can Apply Six Sigma Principles To Quality Control Planning. *Clinical Laboratory News*. Jan 2006; 33:10-12
<http://www.aacc.org/AACC/publications/cln/monthlySeries.htm>

qualityControl2006.pdf Westgard J: Internal Quality control: Planning and implementation strategies. *Ann Clin Biochem*. 2003; 40: 593-611
<http://isacco.ingentaselect.com/vl=975790/cl=55/nw=1/rpsv/cw/rsm/00045632/v40n6/s2/p593>

UNCERTAINTY

1301200103 incertidumbre.pdf Kallner A: Uncertainty in Measurement, Introduction and Examples, eJIFCC vol 13 no1:
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no1/1301200103.htm>

130401006 incertidumbre.pdf Fuentes-Arderiu X: Uncertainty of measurement in Clinical Microbiology, eJIFCC vol 13 no 4:
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no4/130401006.htm>

140103200309.pdf Uncertainty of measurement and heteroscedasticity , eJIFCC vol 14 no 1:
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol14no1/140103200306n.htm>

1327.pdf Fuentes-Arderiu X: Influence Quantities and Uncertainty of Measurement. *Clin Chem* 2001;47:1327-1328.
<http://www.clinchem.org/cgi/content/full/47/7/1327>

1396 incertidumbre clin chem.pdf Patriarca M-, Castelli M., Corsetti F , Menditto A. Estimate of Uncertainty of Measurement from a Single-Laboratory Validation Study: Application to the Determination of Lead in Blood *Clinical Chemistry*. 2004;50:1396-1405
<http://www.clinchem.org/cgi/content/full/50/8/1396>

- 1437.pdf Xavier Fuentes-Arderiu. Uncertainty of Measurement in Clinical Laboratory Sciences *Clinical Chemistry*. 2000;46:1437-1438
<http://www.clinchem.org/cgi/content/full/46/9/1437>
- 526.pdf pdf Barbara Francis, et al Calculating Uncertainty of Measurement for Serology Assays by Use of Precision and Bias, *Clinical Chemistry* 2006; 52: 526-529.
<http://www.clinchem.org/cgi/content/full/52/3/526>
- Articulo doble.pdf Jan S. Krouwer. Point: Critique of the *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* Method of Estimating and Reporting Uncertainty in Diagnostic Assays. *Clinical Chemistry* 2003; 49:11 1818-1821
<http://www.clinchem.org/cgi/content/full/49/11/1818>
- Jesper Kristiansen Counterpoint : The Guide to Expression of Uncertainty in Measurement Approach for Estimating Uncertainty: An Appraisal *Clinical Chemistry*. 2003;49:1822-1829
<http://www.clinchem.org/cgi/content/full/49/11/1822>
- Incertidumbre IFCC.pdf Uncertainty in Measurement, Introduction and Examples, Kallner A, eJIFCC vol 13 no1:
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no1/1301200103.htm>
- Uncertainty of measurement.pdf G.H. White, I. Farrance Uncertainty of Measurement in Quantitative Medical Testing - A Laboratory Implementation Guide - *Clin Biochem Rev* Vol 25 Suppl (ii) November 2004 I S1
www.aacb.asn.au
- picrender.pdf White GH: Uncertainty of Measurement is Exactly That *Clin Biochem Rev* 2005; 26: 159-160
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1320179&blobtype=pdf>
- picrender. 2 pdf.pdf Badrick T, Hawkins R, Wilson S, Hickman P: Uncertainty of Measurement: What it is and What it Should Be . *Clin Biochem Rev*. 2005; November; 26(4): 155-158.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1320178&blobtype=pdf>

TRACEABILITY

- 130301002.pdf Reference Systems in Clinical Enzymology, Siekmann L, eJIFCC vol 13 no 3:
<http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no3/130301002.htm>
- wfkivd.pdf William F. Koch Workshop on measurement traceability for clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems: A Report on the Workshop NIST
<http://www.cstl.nist.gov/nist839/ivd/wfkivd.pdf>
- IVD_Proceedings[1].pdf Proceedings of the Workshop on Measurement Traceability for Clinical Laboratory Testing and In Vitro Diagnostic Test Systems. May 2001. NIST
http://findarticles.com/p/articles/mi_m0IKZ/is_4_106/ai_80128167
- NCCLS.salit.pdf Marc Salit: Implementing Metrological Traceability in Laboratory Medicine: NCCLS role. NCCLS Leadership conference 2004.
<http://www.cstl.nist.gov/JCTLM%20Activities/nccls/NCCLS.salit.pdf>
- Talk.wem.ppt Willie. E. May .Higher order Reference Methods and Reference Material for clinical Diagnostics. NIST
www.cstl.nist.gov/JCTLM%20Activities/AACC%20Meeting%20Presentations/Talk.wem.ppt

ANEXA 1

APLICAȚIA 1. PREPARAREA UNUI CALIBRATOR STANDARD

Se va prepara un calibrator standard pentru spectroscopie cu absorbție atomică, AAS (Atomic Absorption Spectroscopy) din metal de înaltă puritate (în acest exemplu, o concentrație de ≈ 1000 mg/L Cd în diluție de HNO_3). (Astfel de concentrații standard sunt, în măsurările analitice, referite standard trasabile la SI).

ETAPA 1. DEFINIREA/SPECIFICAREA MĂSURANDULUI

1.1 Procedura pentru prepararea calibratorului standard.

- a) Suprafața metalului (Cd) de înaltă puritate este curățată cu o soluție acidă pentru înlăturarea oricărei urme de oxid, metoda de curățire este specificată de către fabricantul metalului și trebuie respectată pentru a obține puritatea specificată în certificatul însoțitor.
- b) Un balon cotate este cântărit fără și cu o cantitate de 100 mg de Cd înăuntru. Balanța pentru cântărire are rezoluția de 0,01 mg.
- c) 1 mL de acid azotic (65% m/m) și 3 mL de apă deionizată sunt turnate în balonul cotate, pentru dizolvarea cadmiului. Apoi balonul cotate este umplut până la marcaj cu apă deionizată și rotit de cel puțin 30 de ori.

- 1.2 *Măsurandul* este concentrația soluției standard de calibrare, care depinde de cantitatea de metal (Cd), puritatea metalului și de volumul de lichid din balonul cotate, exprimată prin relația

$$c_{\text{Cd}} = \frac{1000 \cdot m \cdot P}{V} \text{ [mg/L]}$$

în care

c_{Cd} - concentrația calibratorului standard [mg/L]

m - masa metalului de înaltă puritate [mg]

P - puritatea metalului, exprimată ca fracție de masă, procent

1000 - factorul de conversie a volumului, din [mL] la [L], (dimensiunea utilizată în relație este L)

V - volumul de lichid exprimat în mL

ETAPA 2. IDENTIFICAREA ȘI ANALIZAREA SURSELOR DE INCERTITUDINE

Parametrii care intră în relația concentrației,

$$c_{Cd} = f(P, m, V)$$

în estimare lor, pot avea o eroare, deci fiecăruia i se poate asocia o incertitudine care se transmite în calculul incertitudinii compuse asociată măsurandului (concentrația c_{Cd}). Aceste surse de incertitudine sunt actualizate în continuare.

2.1 *Puritatea metalului, P.* Puritatea, cadmiului specificată de producător, este $99,99 \pm 0,01\%$ adică $0,9999 \pm 0,0001$. Această valoare depinde de curățirea suprafeței metalului, care dacă este bine realizată nu apare pericolul de contaminarea suprafeței cu oxizi. De asemenea, nu există informație cu privire la dizolvarea 100%, de aceea se verifică soluția și se repetă operația de prepararea până se obține o dizolvare de 100%; în acest fel specificația de puritate dată de producător se poate considera că nu mai este afectată și de alte surse de incertitudine.

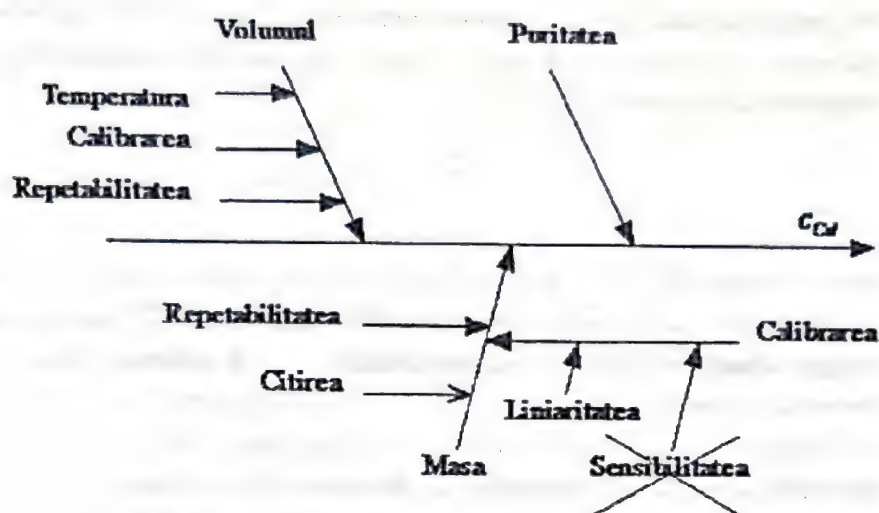
2.2 *Masa, m.* Se prepară 100 mL de soluție de Cd cu concentrația de 1000 mg/L. Masa de Cd pentru această soluție, cântărită cu balanța, este de $m = 0,10028$ g. Sursele de incertitudine care pot afecta cântărirea sunt:

- a) citirea pe scala balanței
- b) repetabilitatea (citirilor succesive)
- c) calibrarea scalei, care, potențial, are următoarele două surse de incertitudine:
 - liniaritatea
 - sensibilitatea (care poate fi neglijată)

2.3 *Volumul, V.* Volumul de soluție din balonul cotate poate fi afectat de următoarele surse de incertitudine:

- a) incertitudinea de certificare a volumului balonului cotate specificată de către producător (calibrarea)
- b) incertitudinea asociată umplerii la cotă a balonului (repetabilitatea)
- c) temperatura soluției și a balonului cotate diferă de temperatura la care balonul a fost cotate (temperatura).

Aceste efecte care intervin în evaluarea incertitudinii concentrației calibratorului standard sunt reprezentate în diagrama "cauză - efect" ("os - de - pește", Ishikava) următoare



ETAPA 3. CUANTIFICAREA COMPONENTELOR DE INCERTITUDINE

În această etapă fiecare din sursele potențiale de incertitudine, identificate în etapa 2, sunt fie direct măsurate, fie estimate utilizând o informație apriori.

3.1 *Puritatea*. Puritatea cadmiului este dată în certificatul însoțitor $0,9999 \pm 0,0001$.

Deoarece nu există nici o altă informație referitoare la incertitudinea asociată acestei valori se consideră o distribuție de probabilitate dreptunghiulară cu semiintervalul $a = 0,0001$. Incertitudinea standard se determină cu relația (3.6)

$$u(P) = \frac{0,0001}{\sqrt{3}}$$

3.2 *Masa*. Incertitudinea asociată determinării masei este indicată de către producătorul de balanță ca fiind

$$u(m) = 0,05 \text{ mg}$$

care include toate cele trei surse potențiale identificate anterior.

3.3 *Volumul*. În estimarea volumului sunt trei surse de incertitudine: calibrarea, repetabilitatea și efectele de temperatură.

a) *Calibrarea*. Producătorul specifică pentru balonul cotelat $100\text{mL} \pm 0,1\text{mL}$ la temperatura de 20°C . Se va considera o distribuție triunghiulară

(vezi exemplul 1.7) deci incertitudinea standard se calculează cu relația (3.7)

$$u(V_c) = \frac{0,1 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 0,04 \text{ mL}$$

- b) Repetabilitatea. Incertitudinea datorată variațiilor la umplerea balonului cotelat. Pentru o serie de 10 umpleri și cântăriri ale balonului cotelat a rezultat o abatere standard

$$u(V_r) = 0,02 \text{ mL}$$

- c) Temperatura. Conform producătorului balonului cotelat a fost calibrat la temperatura de 20°C pe când în laboratorul prezentei evaluări temperatura evaluează între limitele de $\pm 4^\circ\text{C}$ față de 20°C . Incertitudinea datorată acestei variații de temperatură poate fi estimată din coeficientul de expansiune a balonului și intervalul de temperatură, dar se consideră că dilatarea volumului lichidului este mai mare decât expansiunea volumului balonului. Coeficientul de dilatare al apei este de $2,1 \cdot 10^{-4}/^\circ\text{C}$, care duce la o variație de volum de $\pm(100 \text{ mL} \cdot 4^\circ\text{C} \cdot 2,1 \cdot 10^{-6}/^\circ\text{C}) = \pm 0,084 \text{ mL}$. Considerând pentru variația de temperatură o distribuție rectangulară, incertitudinea standard, calculată cu relația (3.7) este

$$u(V_t) = \frac{0,084}{\sqrt{3}} = 0,05 \text{ mL}$$

Cele trei surse de incertitudine care afectează măsurarea volumului sunt combinate în incertitudinea standard $u(V)$ asociată volumului V

$$\begin{aligned} u(V) &= \sqrt{u(V_c)^2 + u(V_r)^2 + u(V_t)^2} = \sqrt{0,04^2 + 0,02^2 + 0,05^2} \\ &= 0,07 \text{ mL} \end{aligned}$$

ETAPA 4. CALCULUL INCERTITUDINII COMBINATE

Valorile pentru calculul incertitudinii combinate sunt trecute în tabelul următor. Cu valorile din tabel se calculează concentrația calibratorului standard

$$c_{Cd} = \frac{1000 \cdot m \cdot P}{V} = \frac{1000 \cdot 100,28 \cdot 0,9999}{100,0} = 1002,7 \text{ mg/L}$$

Pentru această expresie multiplicativă incertitudinea combinată se calculează conform relației (3.10-b)

$$\begin{aligned} \frac{u_c(c_{Cd})}{c_{Cd}} &= \sqrt{\left(\frac{u(P)}{P}\right)^2 + \left(\frac{u(m)}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(V)}{V}\right)^2} \\ &= \sqrt{\left(\frac{0,000058}{0,9999}\right)^2 + \left(\frac{0,05}{100,28}\right)^2 + \left(\frac{0,07}{100}\right)^2} = 0,0009 \end{aligned}$$

Simbol	Descriere	Valoare	Tip incert.	Incertitudinea standard, $u(x)$	Contribuția relativă, %
P	Puritate metal	0,9999	Tip B	0,000058	0,01
m	Masă metal	100,28 mg	Tip B	0,05	33,78
V	Volum balon	100,0 mL		0,07 mL	66,21
V_c	Calibrarea	$\pm 0,1$ mL	Tip B	0,04 mL	
V_r	Repetabilitatea	100 mL	Tip A	0,02 mL	
V_t	Temperatura	$\pm 0,084$ mL	Tip B	0,05 mL	
c_{Cd}	Concentrația calibratorului standard	1002,7 mg/L		$u_c(c_{Cd}) = 0,9$ mg/L	$\frac{u_c(c_{Cd})}{c_{Cd}} = 0,0009$

$$u_c(c_{Cd}) = c_{Cd} \cdot 0,0009 = (1002,7 \text{ mg/L}) \cdot 0,0009 = 0,9 \text{ mg/L}$$

Incertitudinea extinsă $U(c_{Cd})$ se obține utilizând un coeficient de multiplicare $k = 2$ (nivel de încredere $\approx 95\%$)

$$U(c_{Cd}) = 2 \cdot 0,9 \text{ mg/L} = 1,8 \text{ mg/L}$$

Concentrația calibratorului se raportează:

- În valori absolute: $c_{Cd} = 1002,7 \pm 1,8$ [mg/L] (pentru $k = 2$)
- În valori relative: $c_{Cd} = 1002,7 \pm 0,17\%$ [mg/L] (pentru $k = 2$)



ANEXA 2

APLICAȚIA 2. ESTIMAREA INCERTITUDINI ASOCIATE PROCESULUI DE MĂSURARE A GLICEMIEI PE UN AUTOANALIZOR UTILIZAND METODA ANALITICĂ.

Caracteristica de transfer pentru analizor este cea exprimată prin relația (2.15), care se retranscrie sub următoarea formă

$$C_x = C_0 + \frac{A_x - A_0}{A_{cal} - A_0} (C_{cal} - C_0) = C_0 + \frac{A'_x}{A'_{cal}} (C_{cal} - C_0) \quad (A2.1)$$

În a doua egalitate s-a substituit $A_x - A_0$ cu A'_x (semnalul de absorbție obținut pentru probă corectat cu blancul) și $A_{cal} - A_0$ cu A'_{cal} (semnalul de absorbție obținut pentru calibrator corectat cu blancul). Toate mărimile care apar în partea dreaptă a egalității sunt mărimi de intrare în modelul matematic pentru procesul de măsurare pe autoanalizor. Fiecare din aceste mărimi de intrare este afectată de o incertitudine, iar aceste incertitudini contribuie la incertitudinea asociată valorii măsurate, C_x , a probei de glucoză.

Modelul teoretic (A2.1) trebuie completat încât să includă și alte surse de incertitudine care intervin în procesul de măsurare, în consecință se introduc în relație următorii coeficienți

d - Factor care include diluția probei. Această diluție poate fi realizată de analist înainte de introducerea probei în analizor sau chiar (automat) de către analizor. Pentru a calcula concentrația, în cazul probei diluate, este necesar ca rezultatul obținut să fie multiplicat cu factorul de diluție d . Expresia factorului de diluție este $d = (V_1 + V_2)/V_1$ în care: V_1 - este volumul probei [μL]; V_2 - este volumul diluentului (reactiv + apă), [μL].

k_{matr} - Factorul de matrice. Acest factor reflectă faptul că proba și calibratorul nu sunt perfect "comutabile", adică există efectul de matrice. Orice diferență între macrostructura și compoziția probei și cea a calibratorului poate produce diferență în răspunsul analizorului (Figura 2.6-b).

k_{drift} - Uzual, calibrarea este efectuată lunar sau săptămânal, iar controlul cu ser de control la fiecare șase ore. Informația obținută prin probele de control este

înscrisă în diagramele de control (Shewart) și constituie parte a controlului intern de calitate. Schimbarea sensibilității aparatului ("drift") între calibrări, adică modificarea în timp a pantei drepte de calibrare (Figura 2.6-c), duce, evident, la modificarea valorii concentrației măsurate. Dacă măsurările asupra probelor de control indică valori care se situează în afara unui interval acceptat atunci se repetă controlul, iar dacă abaterile persistă se realizează calibrarea. Stabilitatea în timp a analizorului, constanța valorii pantei caracteristicii de transfer (caracteristica de calibrare) este testată de către furnizor la instalare, iar de către laborator, la calibrarea analizorului. Factorul de drift este introdus în modelul matematic pentru a lua în considerare incertitudinea asociată eventualei apariții a instabilității în timp ("drift") a analizorului asupra valorii măsurate.

$k_{preanalitic}$ - În etapa prelevării probei (sampling) și preparării acesteia pot apare multe surse de eroare (Figura 3.2), deci componente de incertitudine care afectează valoarea măsurată, ca de exemplu:

- contaminarea și/sau pierderi datorate echipamentului utilizat;
- tehnica de prelevare și în general manipularea probelor pentru a evita, de exemplu, hemoliza;
- efectele de timp și de temperatură, de exemplu, în timpul depozitării;
- reglării speciale ale instrumentelor, de exemplu, poziția tubului și viteza în timpul centrifugării;
- concentrația chimicalelor și a reactivilor, de exemplu, acele prezente în tubul unde proba (sânge intergal) este colectată.

Toate aceste posibile efecte, surse de incertitudine asupra valorii măsurate, sunt luate în considerare în modelul matematic prin introducerea termenului $k_{preanalitic}$.

k_{intra} - Concentrația tuturor componentelor clinice relevante, din sângele uman, depinde de factori biologici și de altă natură, cum sunt: ritmul zilnic, dieta, stressul sau somnul. Aceștia pot fi incluși în evaluarea incertitudinii prin considerarea factorului intra-individual, k_{intra} , iar valorile utilizate se culeg din literatură.

Modelul matematic (A2.1), prin introducerea efectelor de mai sus devine

$$C_x = \left[C_0 + \frac{A'_x}{A_{cal}} (C_{cal} - C_0) \right] \cdot d \cdot k_{matr} \cdot k_{drift} \cdot k_{intra} + k_{preanalitic} \quad (A2.2)$$

Observație: Aceste efecte se pot introduce în modelul matematic fie ca termeni (de sumă) fie ca factori (de produs). Valoarea nominală (în absența efectului introdus) a unui factor (produs) este considerată ca fiind egală cu 1, iar valoarea nominală

(în absența efectul introdus) a unui termen (sumă) este considerată ca fiind egală cu 0. Dar, evident, chiar și aceste valori nominale ale factorilor introduși în modelul matematic prezintă o incertitudine asociată. Contribuția fazei preanalitice, coeficientul $k_{preanalitic}$, este introdusă în model sub forma unui termen (sumă) deoarece această fază are multe componente (enumerate anterior) și care nu sunt dependente de concentrație. Modelul utilizat pentru calculul incertitudinii nu va lua în considerare și efectul intra-individual.

Valoarea concentrației de glucoză, C_g , conform relației (A2.2) rezultă:

$$C_g = \left[0 + \frac{0,3}{0,3445} (8,04 - 0) \right] \left(\frac{1,6 + 200}{200} \right) \cdot 1 \cdot 1 \cdot 1 + 0 = 7,06 \text{ mmol/L}$$

iar pentru calculul incertitudinii compuse, conform relației (3.8-b) rezultă:

$$u_c(C_g) = \sqrt{\frac{c_{A_x}^2 \cdot u^2(A'_x) + c_{A_{cal}}^2 \cdot u^2(A'_{cal}) + c_{C_0}^2 \cdot u^2(C_0) + c_{C_{cal}}^2 \cdot u^2(C_{cal})}{+ c_{V_1}^2 \cdot u^2(V_1) + c_{V_2}^2 \cdot u^2(V_2)}} = 0,2115 \text{ mmol/L}$$

Incertitudinea extinsă, pentru $k = 2$, este $U = 2 \cdot 0,2115 = 0,43 \text{ mmol/L}$, iar valoarea raportată numai cu două zecimale este

$$\text{absolut } C_g = 7,06 \pm 0,43 \text{ [mmol/L] pentru } k = 2$$

$$\text{relativ } C_g = 7,06 \pm 6\% \text{ [mmol/L] pentru } k = 2$$

Comparând valoarea relativă a incertitudinii extinse, de 6%, obținută prin această metodă analitică, cu incertitudinea de 7%, obținută prin utilizarea datelor din controlul intern de calitate și din evaluarea interlaboratoare, Exemplul 3.11 cu aplicarea corecției, se constată valori apropiate. Este normal ca în Exemplul 3.11 incertitudinea extinsă să fie o valoare puțin mai mare deoarece prin metoda respectivă sunt considerați toți factorii de eroare (și cei care au fost omiși prin această metodă analitică).

Bugetul de incertitudine pentru această metodă analitică este prezentat în tabelul următor [6]

Măsurand: concentrația totală de glucoză, (C_g), în probă de plasmă umană

Simbol X_i	Componente (Surse de incertitudine)	Valoare X_i	Unitate de măsură	Informație furnizată pentru evaluarea incertitudinii $u(X_i)$		Tip	$u(X_i)$	$ c_i $	%
				Valoare	Sursă				
A'_x	Semnalul de absorbantă (corectat cu blanc-ul)	0,3	[AU]	0,006	Reproductibilitatea internă din controlul intern de calitate, 2%	A	0,0060	23,5249	44,56%
A'_{cat}	Semnalul de absorbantă al calibratorului (corectat cu blancul)	0,3445	[AU]	0,0046	Dispersia experimentală pe durata a șase luni	A	0,0046	-20,486	19,86%
C_0	Concentrația în glucoză a blancului (apă pură)	0	mmol/L	0	Se consideră că incertitudinea pt. "concentrația" apei este zero	-	0,0000	0,13021	0,00%
C_{cat}	Concentrația în glucoză a calibratorului	8,04	mmol/L	0,1437	Calibrator trasabil MR NIST 965	B	0,1437	0,87779	35,58%
V_1	Volumul eșantionului (automat)	1,6	μL	Bias: 0,03 $s(V_1) : 0,014$	Incetitudinea pipetelor indicată de furnizor	B	0,0223	0,03501	0,00%
V_2	Volumul reactiv + apă (automat)	200	μL	Bias: 1,6 $s(V_1) : 0,3$	Incetitudinea pipetelor indicată de furnizor	B	0,9700	0,003	0,00%
k_{matr}	Factorul de matrice	1	-	0	Nu există informație	-	0		
k_{drift}	Factorul de sensibilitate	1	-	0	Informația de la fabricant sau inclusă în precizie	-	0		
$k_{preanalitic}$	Corecția pt. faza preanalitică	0	mmol/L	0	Plan de prelevare, 4% la 5 mmol/L	-	0		

Liniile în nuanță gri au fost neglijate în calcul din lipsă de informație

ANEXA 3

EXEMPLU DE FIȘE DE VALIDARE

Nr. crt.	Conținutul fișei de validare	
1.	Specificarea metodei	
	a. denumirea analizei	Determinarea ureei din ser prin metoda numită - urează
	b. măsurand	Uree
	c. sursa metodei	Metoda dezvoltată în laboratoarele Hoffman La Roche Diagnostics - Germania; nu s-au adus modificari metodei. Metoda a fost standardizată folosind SRM 909b.
2.	Responsabil de validare	Ioana POPESCU - biolog. Se anexează copii după documente de calificare - Anexa *
3.	Condiții de mediu	
	a. echipament	$T = 20 - 25^{\circ}C$; Umiditate = 40 - 60%
	b. proba	$T = 4 - 8^{\circ}C$ și $T = [-20^{\circ}C \dots - 25^{\circ}C]$
	c. reactivi	$T = 20 - 25^{\circ}C$
4.	Echipamentul	
	a. denumire	Analizor automat - biochimie - COBAS INTEGRA 400 PLUS
	b. producator	Hoffman La Roche - Germania
	c. serie	398390/2006
	d. nr. Inventar	0731
	e. certificat de etalonare nr. 05.01 - 716/2007 se atașează certificatul de etalonare - Anexa *	Nivel normal: $U_{extinsă} = 8,0 \text{ mg/dL}$, $k = 2$; Nivel patologic: $U_{extinsă} = 2,6 \text{ mg/dL}$, $k = 2$;
	f. domeniul de măsură	$D_M = 0 - 240 \text{ mg/dL}$ (specificat de producător)
	g. curba de calibrare	Se obține utilizând calibrator pentru sisteme automate Cobas - Roche Diagnostics. (Se anexează curba de calibrare - pentru uree - Anexa *)
Continuare pe pagina următoare		

TABEL 5 – continuare de pe pagina precedentă

Nr. crt.	Conținutul fișei de validare
	h. înregistrări de mentenanță Analizorul este nou. Analizorul zilnic își face automat următoarele operații de întreținere: spălare tubulatură și ace și deproteinizare. (Se atașează procesul verbal de instalare al echipamentului, anexa * și eventual de mentenanță). Pentru un analizor în funcțiune se specifică datele generate de mentenanță.
5.	Reactivi utilizați Reactivii sunt adecvați lucrului cu echipamentul (este sistem închis), care urmează a fi utilizat și sunt în termen de valabilitate. Reactivi Roche Diagnostics, lot 69193601, data expirării 05.2008 (se atașează certificate de calitate/declarații de conformitate, Anexa *). Reactivul este stabil la bordul echipamentului;
6.	Materiale de referință Materialele de referință (pentru acest sistem închis) sunt adecvate metodei care urmează a fi validată și sunt în termen de valabilitate - Anexa *: <ul style="list-style-type: none"> - nivel normal: ser de control "Precinorm U" lot: 175650; data expirării: 12.2008, cu valori în intervalul: [34,8 - 47,4] mg/dL, valoarea țintă = 41,1 mg/dL; $SD = 2,1$ mg/dL; - nivel patologic: ser de control "Precipath U" lot: 174531; data expirării: 11.2008, cu valori în intervalul: [133 - 181] mg/dL, valoarea țintă = 157 mg/dL; $SD = 8$ mg/dL;
7.	Limita minimă de detecție - L_D Deoarece $L_{Cm} = 0$ mg/dL se consideră $L_D = 0$ mg/dL, (nu are relevanță clinică!)
8.	Limita minimă de cuantificare/ măsurare - L_Q Evident $L_Q > 0$ mg/dL, dar este irelevantă din punct de vedere clinic deoarece limita minimă a domeniului de referință = 20 mg/dL $\gg L_Q$, deci se consideră $L_Q = L_{Cm} = L_I = 0$ mg/dL.
9.	Limita maximă de măsurare - L_M $L_M = 240$ mg/dL (din catalog). Prin testarea unei probe de 240 mg/dL s-a verificat capacitatea analizorului de măsurare la limita superioară ($L_M = L_S$)
10.	Domeniul de măsurare $D_M = [L_I, L_S] = [0 - 240]$ mg/dL
	Valori biologice de referință Adulți: 20-40 mg/dL

Continuare pe pagina următoare

TABEL 5 – continuare de pe pagina precedentă

Nr. crt.	Conținutul fișei de validare
11.	<p>Liniaritatea</p> <p>Din curba de calibrare (Anexa *) rezultă: Limita minima de calibrare $L_{CM} = 0$ mg/dL; Limita maxima de calibrare $L_{CM} = 110$ mg/dL; Domeniul de calibrare este $D_C = (0 - 110)$ mg/dL. Pe întreg domeniu de calibrare, D_C, caracteristica de transfer este liniară și se consideră caracteristică liniară până la valoarea $L_{LM} = L_S = L_M$. Domeniul de referință $D_R = (20 - 40)$ mg/dL, deci D_R este inclus în D_C, $D_R \subset D_C$, astfel se asigură liniaritate pentru măsurarea probelor. Domeniul de măsurare $D_M = 0 - 240$ mg/dL, domeniul de calibrare, $D_C = (0 - 110)$ mg/dL, deci este inclus în domeniul de măsurare, $(D_R \subset D_C \subset D_M)$.</p>
12.	<p>Imprecizia - (Anexa *)</p> <p>Nivel normal: Repetabilitate $m = 38,35$ mg/dL; $SD = 0,50$ mg/dL; $CV = 1,32\%$. $CV = 1,32\% < 3,0\%$ (limită impusă în [17]).</p> <p>Nivel patologic: Repetabilitate $m = 156,41$ mg/dL; $SD = 2,81$ mg/dL; $CV = 1,80\%$. $CV = 1,80\% < 1,9\%$ (limită impusă în [17]).</p> <p>Nivel normal: Reproducibilitate internă, pe durata a ... zile/luni (este recomandat ca datele să fie obținute din baza de date a controlului intern de calitate) $m = 39,44$ mg/dL; $SD = 2,25$ mg/dL; $CV = 5,71\%$. $CV = 5,71\% > 4,85\%$! (limită impusă în [17]).</p> <p>Nivel patologic: Reproducibilitate internă, pe durata a ... zile/luni (este recomandat ca datele să fie obținute din baza de date a controlului intern de calitate) $m = 157,08$ mg/dL; $SD = 6,44$ mg/dL; $CV = 4,10\%$; $CV = 4,10\% > 2,5\%$! (limită impusă în [17]). Pentru valorile CV, din acest exemplu, atât pentru nivel normal cât și nivelul patologic, imprecizia depășește limitele prescrise pentru uree, deci se impune analizarea factorilor care influențează funcționarea în timp a analizorului. (reproducibilitatea internă)</p>
	<p>Nivel normal: $D = 1,66$ mg/dL; $D[\%] = 4,03\%$ $D[\%] = 4,03\% < 6,9\%$ (limită impusă în [17]).</p>

Continuare pe pagina următoare

TABEL 5 – continuare de pe pagina precedentă

Nr. crt.	Conținutul fișei de validare	
13.	Inexactitatea (pe reproductibilitate internă) Anexa *	<p>Nivel patologic: $D = 0,08 \text{ mg/dL}$; $D[\%] = 0,05\%$ $D[\%] = 0,05\% < 4,3\%$ (limită impusă în [17]).</p> <p>S-au efectuat 42 (pentru nivelul normal) și respectiv 43 (pe nivelul patologic) de măsurări - cu următoarele materiale de referință:</p> <p>nivel normal: ser de control "Precinorm U" lot: 175650; data expirării: 12.2008; cu valori în intervalul: $[34,8 - 47,4] \text{ mg/dL}$; valoarea țintă = $41,1 \text{ mg/dL}$; $SD = 2,1 \text{ mg/dL}$; valoare medie calculată $m = 39,44 \text{ mg/dL}$.</p> <p>nivel patologic: ser de control "Precipath U" lot: 174531; data expirării: 11.2008; cu valori în intervalul: $[133 - 181] \text{ mg/dL}$; valoarea țintă = 157 mg/dL; $SD = 8 \text{ mg/dL}$; valoare medie calculată $m = 157,08 \text{ mg/dL}$.</p>
14.	Incertitudinea de măsurare	Se atașează fișa de calcul - vezi Anexa 4

* Anexele se atașează raportului de validare

ANEXA 4

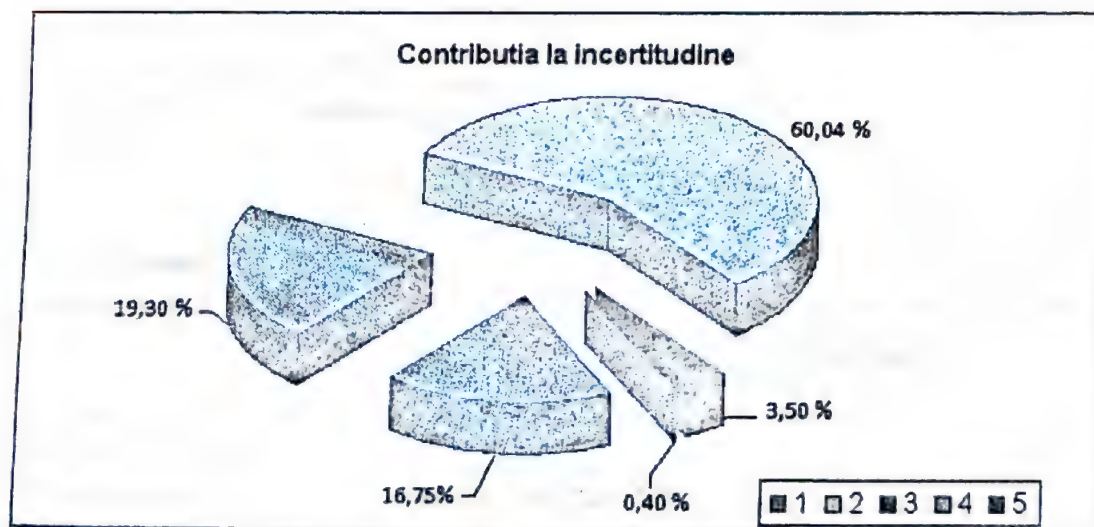
EXEMPLU DE ESTIMARE ȘI RAPORTARE PENTRU INCERTITUDINEA DE MĂSURARE

	Material de referință*: (nivel normal) Ser de control "PRECINORM U" Lot 175650; Expiră: 12.2008	Valori [mg/dL]	Material de referință*: (nivel patologic) Ser de control "PRECIPATH U" Lot 174531; Expiră: 11.2008	Valori [mg/dL]
1.	Reproductibilitate: $m = 39,44$; $CV = 5,71\%$	$s(x) = 2,25$ $u_p = 2,25$	Reproductibilitate: $m = 157,08$; $CV = 4,10\%$	$s(x) = 6,44$ $u_p = 6,44$
2.	Deplasare: $D = m - \text{țintă} = 39,44 - 41,1$	$D = 1,66$ $u_D = 0,95$	Deplasare: $D = m - \text{țintă} = 157,08 - 157,00$	$D = 0,08$ $u_D = 0,046$
3.	Materialul de referință: $SD = 2,1 \text{ mg/dL}$	$u_r = 2,1$	Materialul de referință: $SD = 8 \text{ mg/dL}$	$u_r = 8$
4.	Incertitudinea de etalonare de pe certificatul - INM	$U_{et} = 8,0$ $u_{et} = 4,0$	Incertitudinea de etalonare de pe certificatul - INM	$U_{et} = 2,6$ $u_{et} = 1,3$
5.	Se introduc și alți factori ce pot influența rezultatul (temperatura ambientală, neliniaritatea, robustețea, interferențe etc) numai dacă este nevoie (și se estimează contribuția acestora).	$u_r = 0,25$	Se introduc și alți factori ce pot influența rezultatul (temperatura ambientală, neliniaritatea, robustețea, interferențe etc) numai dacă este nevoie (și se estimează contribuția acestora).	$u_r = 0,25$
6.	Incertitudinea compusă: $u_C = \sqrt{(u_p^2 + u_{et}^2 + u_D^2 + u_r^2 + u_f^2)}$	5,14	Incertitudinea compusă: $u_C = \sqrt{(u_p^2 + u_{et}^2 + u_D^2 + u_r^2 + u_f^2)}$	10,35
7.	Incertitudinea extinsă: $U = 2 \cdot u_C$ (pentru $k = 2$)	10,28	Incertitudinea extinsă: $U = 2 \cdot u_C$ (pentru $k = 2$)	20,70
8.	Raportarea rezultatului, în valori absolute: $R = x \pm U$ (pentru $k = 2$)	$39,44 \pm 10,28$	Raportarea rezultatului, în valori absolute: $R = x \pm U$ (pentru $k = 2$)	$157,08 \pm 20,70$
9.	Raportarea rezultatului, în valori relative: $R = x \pm U$ (pentru $k = 2$)	$39,44 \pm 26,77\%$	Raportarea rezultatului, în valori relative: $R = x \pm U$ (pentru $k = 2$)	$157,08 \pm 14,43\%$

* Analizorul funcționând în sistem închis, se utilizează serul de control ca material de referință.

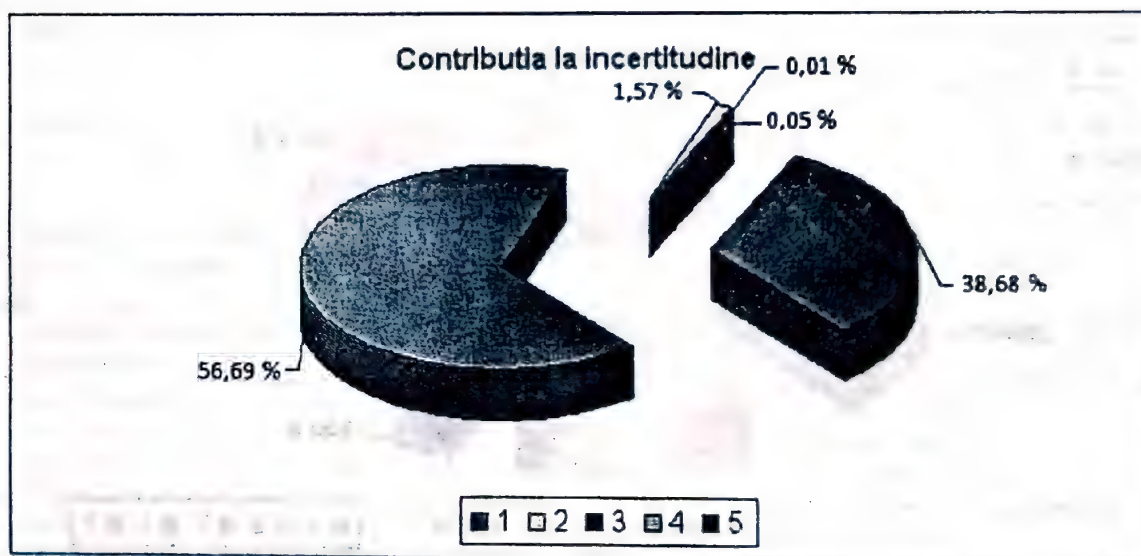
Nivel normal

Nr. crt.	Sursa		Simbol	x_i	Coef. sensibilitate	$u(x_i)$	%
1.	Material de ref.	Incertitudine	u_r	2,1	1	2,1	19,30%
2	Echipament	Etalonare	u_{et}	4	1	4	60,4%
3		Exactitate	u_D	0,95	1	0,95	3,5%
4		Alți factori - temp.	u_f	0,25	1	0,25	0,40%
5	Reproductibilitatea		u_p	2,25	1	2,25	16,75%
Incertitudinea standard compusă			u_c			5,14	
Incertitudinea extinsă			U			10,28	



Nivel patologic

Nr. crt.	Sursa		Simbol	x_i	Coef. sensibilitate	$u(x_i)$	%
1.	Mat. de ref.	Incertitudine	u_r	8.0	1	8.0	59.69%
2	Echipament	Etalonare	u_{et}	1.3	1	1.3	1.57%
3		Exactitate	u_D	0.046	1	0.046	0.01%
4		Alți factori - temp.	u_f	0.25	1	0.25	0.05%
5	Reproductibilitatea		u_p	6.44	1	6.44	38.68%
Incertitudinea standard compusă			u_c			10.35	
Incertitudinea extinsă			U			20.70	



ANEXA 5

FIȘĂ PENTRU ESTIMAREA INCERTITUDINII DE MĂSURARE CONFORM ASOCIAȚIEI AUSTRALASIENE DE BIOCHIMIE CLINICĂ [18]

Definirea măsurandului:

Concentrația potasiului în plasmă

Principiul metodei

Electrod ion selectiv Valinomycine

Unitate de măsură

mmol/L

Intervalul de referință:

Plasmă: 3,2 - 4,3 mmol/L

Interferențe specifice:

Hemoliză, EDTA

Trasabilitate:

Furnizată de producător

- Metoda de referință

Gravimetrie

- Calibrator (nivel de încredere 95%)

Valoare:

Incetitudine:

1. Concentrație scăzută

3,00 ± 0,07 mmol/L

$u_{e1} = 0,035$ mmol/L

2. Concentrație ridicată

7,00 ± 0,08 mmol/L

$u_{e1} = 0,040$ mmol/L

Precizie intermediară:

Obținută din controlul intern de calitate în intervalul 01.01.04 - 20.07.04

- la nivelul $n1 = 4,2$ mmol/L:

$SD = u_{n1} = 0,04$ mmol/L; $CV_{n1} = 1,06\%$

- la nivelul $n2 = 6,2$ mmol/L:

$SD = u_{n2} = 0,05$ mmol/L; $CV_{n2} = 0,86\%$

Obiective analitice:

- State-of-the-art [17]:

$CV = 1,6\%$; $D = 3,1\%$

(pentru nivelul mediu de concentrație)

- Variația biologică [10]:

$CV_I = 4,8\%$

- Limită dorită:

$CV < 0,5 \cdot CV_I = 2,4\%$

($CV_{n1} = 1,06\%$; $CV_{n2} = 0,86\% < 0,5 \cdot CV_I = 2,4\%$ după [10] sau $CV = 1,6\%$ după [17], rezultă obiectiv analitic îndeplinit)

Incetitudinea de măsurare:

- pentru nivelul $n1 = 4,2$ mmol/L:

$u_{c(n1)} = \sqrt{u_{e1}^2 + u_{n1}^2} = \sqrt{0,035^2 + 0,04^2}$
 $= 0,05$ mmol/L

$U_{n1} = 2 \cdot u_{c(n1)} = 2 \cdot 0,05 = 0,1$ mmol/L

- pentru nivelul $n2 = 6,2$ mmol/L:

$u_{c(n2)} = \sqrt{u_{e1}^2 + u_{n2}^2} = \sqrt{0,04^2 + 0,05^2}$
 $= 0,06$ mmol/L

$U_{n2} = 2 \cdot u_{c(n2)} = 2 \cdot 0,06 = 0,12$ mmol/L
 $(\approx 0,10$ mmol/L)

Valoare raportată:

- pentru nivelul $n1 = 4,2$ mmol/L:

$4,2 \pm 0,1$ mmol/L

- pentru nivelul $n2 = 6,2$ mmol/L:

$6,2 \pm 0,1$ mmol/L

ANEXA 6

CERINȚELE DE CALITATE ANALITICĂ (DUPĂ CLIA 88)

Valori pentru eroarea totală admisă, TE_a (Allowable Total Error).

Pentru actualizare vezi <http://www.westgard.com/clia.htm>

Routine Chemistry

Test or Analyte	Acceptable Performance
Alanine aminotransferase	Target value $\pm 20\%$
Albumin	Target value $\pm 10\%$
Alkaline phosphatase	Target value $\pm 30\%$
Amylase	Target value $\pm 30\%$
Aspartate aminotransferase (AST)	Target value $\pm 20\%$
Bilirubin, total	Target value ± 0.4 mg/dL or $\pm 20\%$ (greater)
Blood gas pO ₂	Target value $\pm 3SD$
Blood gas pCO ₂	Target value ± 5 mm Hg or $\pm 8\%$ (greater)
Blood gas pH	Target value ± 0.04
Calcium, total	Target value ± 5 mm Hg or $\pm 8\%$ (greater)
Chloride	Target value $\pm 5\%$
Cholesterol, total	Target value $\pm 10\%$
Cholesterol, high dens. lipoprotein	Target value $\pm 30\%$
Creatine kinase	Target value $\pm 30\%$
Creatine kinase isoenzymes	MB elevated (present or absent) or Target value $\pm 3SD$ Creatinine
Creatinine	Target value ± 0.3 mg/dL or $\pm 15\%$ (greater)
Glucose	Target value ± 6 mg/dL or $\pm 10\%$ (greater)
Iron, total	Target value $\pm 20\%$
Lactate dehydrogenase (LDH)	Target value $\pm 20\%$
LDH isoenzymes	Target value LDH1/LDH2 (+ or -) or Target value $\pm 30\%$
Magnesium	Target value $\pm 25\%$
Potassium	Target value ± 0.5 mmol/L
Sodium	Target value ± 4 mmol/L
Total protein	Target value $\pm 10\%$
Triglycerides	Target value $\pm 25\%$
Urea Nitrogen	Target value ± 2 mg/dL or $\pm 9\%$ (greater)
Uric acid	Target value $\pm 17\%$

Toxicology

Theophylline	Target value $\pm 25\%$
Tobramycin	Target value $\pm 25\%$
Procainamide (and metabolite)	Target value $\pm 25\%$
Quinidine	Target value $\pm 25\%$
Valproic acid	Target value $\pm 25\%$

Hematology

Test or Analyte	Acceptable Performance
Cell identification	90% or greater consensus on identification
White cell differentiation	Target $\pm 3SD$ based on percentage of different types of white cells
Erythrocyte count	Target value $\pm 6\%$
Hematocrit	Target value $\pm 6\%$
Hemoglobin	Target value $\pm 7\%$
Leukocyte count	Target value $\pm 15\%$
Platelet count	Target value $\pm 25\%$
Fibrinogen	Target value $\pm 20\%$
Partial thromboplastin time	Target value $\pm 15\%$
Prothrombin time	Target value $\pm 15\%$

Endocrinology

Test or Analyte	Acceptable Performance
Cortisol	Target value $\pm 25\%$
Free thyroxine	Target value $\pm 3SD$
Erythrocyte count	Target value $\pm 6\%$
Human chorionic gonadotropin	Target value $\pm 3 SD$ or (positive or negative)
T3 uptake	Target value $\pm 3 SD$ by method
Triiodothyronine	Target value $\pm 3 SD$
Thyroid stimulating hormone	Target value $\pm 3 SD$
Thyroxine	Target value $\pm 20\%$ or 1.0 mcg/dL (greater)

Hematology

Test or Analyte	Acceptable Performance
Alpha-1 antitrypsin	Target value ± 3 SD
Alpha-fetoprotein	Target value ± 3 SD
Antinuclear antibody	Target value ± 2 dilution or (pos. or neg.)
Antistreptolysin O	Target value ± 2 dilution or (pos. or neg.)
Anti-Human Immunodeficiency virus	Reaction or nonreactive
Complement C3	Target value ± 3 SD
Complement C4	Target value ± 3 SD
Hepatitis (HbsAg, anti-HBc, HbeAg)	Reactive (positive) or nonreactive (negative)
IgA	Target value ± 3 SD
IgE	Target value $\pm 3\%$ SD
IgG	Target value $\pm 25\%$
IgM	Target value ± 3 SD
Infectious mononucleosis	Target value ± 2 dilution or (pos. or neg.)
Rheumatoid factor	Target value ± 2 dilution or (pos. or neg.)
Rubella	

